

## ГАСТРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ТКАНЕЙ СВИНЫХ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ «ИНДОМЕТАЦИНОВОЙ» ЯЗВЕ У КРЫС

Самира Эльшадовна ЛОРЕНЦ, Александр Юрьевич ЖАРИКОВ,  
Игорь Петрович БОБРОВ, Олеся Николаевна МАЗКО,  
Олеся Геннадьевна МАКАРОВА, Валерий Иванович КИСЕЛЕВ

*Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России  
656038, г. Барнаул, просп. Ленина, 40*

Цель исследования – макро- и микроскопическая оценка морфологического состояния слизистой оболочки желудка в условиях применения пептидного комплекса из тканей свиных почек при экспериментальной «индометациновой» язве желудка. **Материал и методы.** Эксперименты были проведены на 16 самцах крыс сток Вистар, разделенных поровну на две группы: контрольную (моделирование язвенной болезни желудка) и подопытную (моделирование язвенной болезни желудка + введение пептидного комплекса из тканей свиных почек в дозе 15 мг). Пептидный комплекс был получен методом уксусно-кислой экстракции из лиофильно высушенного гомогената свиных почек. Модель индометацинового повреждения слизистой оболочки желудка крыс воспроизводили путем однократного внутривентрикулярного введения индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл физиологического раствора. **Результаты.** Установлено, что у животных контрольной группы введение индометацина вызывало явления выраженного эрозивного гастрита. На этом фоне в подопытной группе фиксировались отчетливые признаки восстановления нормальной структуры слизистой оболочки желудка. Оказалось, что в подопытной группе в сравнении с контролем заболевания в 2,2 раза снизилось количество полосовидных эрозий, в 3,6 раза уменьшился индекс Паулса (для обоих  $p < 0,001$ ). Кроме того, на 85,6 % уменьшилась средняя глубина эрозий и в 1,2 раза увеличилась толщина слизистой оболочки желудка.

**Ключевые слова:** гастропротекторное действие, пептидный комплекс, свиные почки.

Ранее нами получен пептидный комплекс из тканей свиных почек, идентифицирован его аминокислотный состав и исследовано фармакологическое влияние на течение экспериментальной мочекаменной болезни. Оказалось, что данный комплекс обладает выраженным литолитическим действием, которое сопровождается регенерацией эпителия почечных канальцев, ослаблением окислительного повреждения тканей и усилением биосинтетической активности клеток [1, 3].

В настоящее время некоторые экспериментальные данные указывают на патогенетическую близость патологических процессов в нефротелии при мочекаменной болезни и в эпителии желудка при язвенной болезни. Так, например,

при данных патологиях наблюдается усиление процессов свободнорадикального окисления в тканях, увеличение активности лактатдегидрогеназы – маркерного фермента цитолиза, ослабление биосинтетической активности клеток и т.п. [4–7]. В этой связи возникает предположение, что пептидный комплекс из тканей свиных почек, который в эксперименте продемонстрировал способность ослаблять действие факторов повреждения нефротелия, нивелировать окислительный стресс в тканях, а также нормализовать морфофункциональные свойства эпителия [1, 3], может оказывать благоприятное действие на структуру и функцию клеток слизистой оболочки желудка (СОЖ) при язвенной болезни.

*Лоренц С.Э. – преподаватель кафедры фармакологии, e-mail: pharm\_s@mail.ru*

*Жариков А.Ю. – д.б.н., зав. кафедрой фармакологии, e-mail: zharikov\_a\_y@mail.ru*

*Бобров И.П. – д.м.н., зав. морфологической лабораторией Центра медико-биологических исследований, e-mail: ig.bobrov2010@yandex.ru*

*Мазко О.Н. – к.б.н., зав. лабораторией биомедицины Центра медико-биологических исследований, e-mail: olesia.mazko@yandex.ru*

*Макарова О.Г. – к.фарм.н., старший научный сотрудник лаборатории биомедицины Центра медико-биологических исследований, e-mail: olesia552@mail.ru*

*Киселев В.И. – член-корр. РАН, д.м.н., проф. кафедры нормальной физиологии, e-mail: vik@agtu.ru*

Таким образом, целью настоящего исследования явилась макро- и микроскопическая оценка морфологического состояния слизистой оболочки желудка в условиях применения пептидного комплекса из тканей свиных почек при экспериментальной «индометациновой» язве желудка.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пептидный комплекс получали по следующей технологии: 10 г гомогенизированной субстанции из лиофильно высушенных свиных почек заливали 100 мл 0,1N уксусной кислоты и экстрагировали в течение 24 ч при  $t = 5^\circ\text{C}$  с периодическим перемешиванием. По окончании экстракции замораживали при  $t = -20^\circ\text{C}$ , затем сразу оттаивали и фильтровали, после чего осаждали пептиды при помощи ацетона (соотношение экстракт : ацетон 1 : 6) при  $t = 5^\circ\text{C}$  в течение 18 ч. Осадок отделяли, растворяли в дистиллированной воде и фильтровали, полученный супернатант выпаривали и высушивали в термостате при  $t = 60^\circ\text{C}$ .

Эксперименты проведены на 16 самцах крыс-сток Вистар (возраст 7–8 недель, масса 211–229 г), разделенных поровну на две группы: контрольную (моделирование язвенной болезни желудка) и подопытную (моделирование язвенной болезни желудка + введение пептидного комплекса из тканей свиных почек). Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к еде и пище. Исследования выполняли с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Подопытной группе ежедневно в течение 7 дней (до моделирования индуцированного индометацином повреждения слизистой оболочки желудка) вводили внутрижелудочно через зонд в виде взвеси в крахмальной слизи пептидный комплекс из тканей свиных почек в дозе 15 мг на крысу. Последнее введение приходилось за 1 ч до начала действия язвообразующего фактора. Животные контрольной группы получали эквивалентные количества растворителя в соответствующих режимах введения. Модель повреждения слизистой оболочки желудка крыс воспроизводили путем однократного внутрижелудочного введения индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл физиологического раствора.

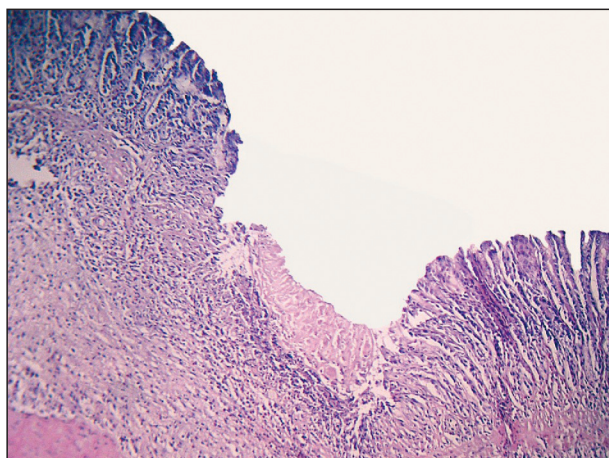
Через 6 ч после введения язвообразующего фактора крысы подвергались эвтаназии с использованием эфирного наркоза, желудка животных извлекали, вскрывали по малой кривизне и промывали

холодным физиологическим раствором. Материал фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина. Проводку материала осуществляли по изопропиловому спирту с помощью автомата проводки карусельного типа TISSUE-TEK VIPTM6 (Sakkura, Япония), заливали материал в парафин при помощи станции парафиновой заливки TISSUE-TEK TEC 5 (Sakkura), окрашивали в автомате для автоматической окраски микропрепаратов TISSUE-TEK Prisma (Sakkura) и заключали под пленку в автомате для автоматического заключения микропрепаратов TISSUE-TEK Film (Sakkura). Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм получали с использованием полуавтоматического роторного микротомы Accu-Cut SRM (Sakkura). Окрашивали препараты гематоксилином и эозином, Шифф-раствором по Мак-Манусу на нейтральные гликозаминогликаны и 1%-м раствором ализанового синего на 3%-й уксусной кислоте (рН 2,5) по Сиддмену на кислые гликозаминогликаны. Подсчитывали плотность воспалительного инфильтрата в 1 мм<sup>2</sup> при помощи окулярной сетки Автандилова.

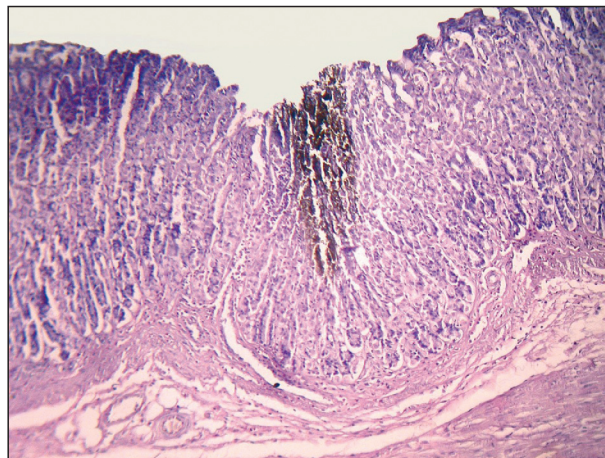
Для каждого вида повреждения слизистой оболочки желудка высчитывали индекс Паулса по формуле:  $(N \times K) / 100$ , где  $N$  – среднее число деструкций на 1 животное,  $K$  – процент пораженных животных в группе. Цифровые микрофотографии микропрепаратов получали с помощью микроскопа Nikon Eclipse E200 (Япония) и цифровой видеокамеры VIDI CAM (Россия). Морфометрические измерения осуществляли при помощи морфометрической программы Видио-Тест-Морфология 5.2. Непрерывные переменные представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Номинальные данные представлены в виде относительных частот объектов исследования ( $n, \%$ ). Для оценки различий количественных данных использовали критерий Стьюдента, критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы ( $p$ ) принимали равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты проведенного морфологического исследования показали, что у животных контрольной группы индометацин вызывал явления выраженного эрозивного гастрита. При микроскопическом исследовании поверхность СОЖ имела бугристый вид, в ней были отчетливо видны деструктивные изменения в виде глубоких полосовидных и поверхностных точечных эрозий (рис. 1). На этом фоне у животных подопытной группы фиксировали значительные признаки восстановления структуры СОЖ. При



**Рис. 1.** Глубокая полосовидная эрозия в СОЖ крыс контрольной группы. Здесь и на рис. 2 окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 100$



**Рис. 2.** Поверхностная точечная эрозия с большим количеством солянокислого гематина в СОЖ у крыс подопытной группы

макроскопическом исследовании у данных животных рельеф СОЖ был ровный. Хотя деструктивные изменения в СОЖ были выявлены у всех подопытных животных, однако они были представлены в основном неглубокими полосовидными и поверхностными точечными эрозиями (рис. 2). Среднее число эрозий на 1 животное по сравнению с контрольной группой в группе подопытных животных было меньше в 1,4 раза. При этом число точечных эрозий в двух группах было одинаковым, а число полосовидных эрозий и их глубина в контроле превышали величины соответствующих показателей в опыте в 2,2 раза и на 85,6 %. Индекс Паулса для полосовидных эрозий в контрольной группе в 3,6 раза превысил таковой для подопытной группы (таблица).

При микроскопическом исследовании СОЖ у крыс контрольной группы выглядела аτροφичной, покровно-ямочный эпителий находится в состоянии дистрофии. Толщина СОЖ по периферии эрозий по сравнению с подопытной группой была меньше в 1,2 раза. При гистохимическом исследовании по методу ШИК столбчатый эпителий поверхностных отделов СОЖ крыс контрольной группы давал слабую реакцию на нейтральные мукополисахариды. Кислые мукополисахариды были слабо выражены в клетках глубоких отделах желудочных ямок. Некротические изменения в язвенных дефектах достигали мышечного слоя. Во многих эрозиях отмечались массивные отложения солянокислого гематина. Воспалительный инфильтрат был выражен слабо и состоял из лим-

**Таблица**

*Макро- и микроскопические показатели структуры слизистой оболочки желудка у крыс при применении пептидного комплекса из тканей свиных почек в условиях экспериментальной язвы желудка*

Показатель	Контрольная группа	Подопытная группа
Число повреждений СОЖ, <i>n</i>	9,6 ± 1,7	6,8 ± 1,2*
Число полосовидных эрозий, <i>n</i>	4,8 ± 0,9	2,2 ± 1,0*
Число полосовидных эрозий, %	51,1	32,4
Число точечных эрозий, <i>n</i>	4,6 ± 1,4	4,6 ± 1,2
Число точечных эрозий, %	48,9	67,6
Индекс Паулса для полосовидных эрозий, %	24,0	6,6
Индекс Паулса для точечных эрозий, %	16,8	16,8
Толщина СОЖ, мкм	335,6 ± 12,4	406,7 ± 14,4*
Глубина эрозий, мкм	385,8 ± 23,7	207,8 ± 13,6*
Плотность воспалительного инфильтрата в СОЖ в 1 мм <sup>2</sup>	1333,3 ± 70,5	1720,0 ± 115,5*

*Примечание.* \* – отличие от величины соответствующего показателя контрольной группы статистически значимо при  $p < 0,05$ .

фоцитов, плазматических клеток и макрофагов. Плотность воспалительного инфильтрата в подслизистом слое составила  $1333,3 \pm 70,5$  клеток в  $1 \text{ мм}^2$ . В мышечном слое фиксировались явления отека и умеренно выраженного воспаления. Сосуды СОЖ были полнокровны.

У крыс подопытной группы при гистохимическом исследовании СОЖ по методу ШИК столбчатый эпителий поверхностных отделов СОЖ давал интенсивную реакцию на нейтральные мукополисахариды. Кислые мукополисахариды определялись умеренно в клетках глубоких отделах желудочных ямок. В подслизистом слое определялись явления умеренно выраженного воспаления, воспалительный инфильтрат составляли лимфоциты, плазматические клетки и нейтрофилы. Сосуды были в состоянии умеренно выраженного полнокровия.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о существенном ослаблении индуцированного индометацином повреждения СОЖ у крыс при применении пептидного комплекса из тканей свиных почек, что подтверждают статистически значимые различия в данных, полученных при макро- и микроскопическом исследовании. Как известно, именно глубокие полосовидные эрозии относятся к наиболее деструктивным нарушениям целостности СОЖ при воздействии индометацина, в связи с чем значительное уменьшение их количества свидетельствует о благоприятном действии пептидного комплекса. Это также подтверждается увеличением толщины СОЖ в группе подопытных животных относительно контроля.

Обсуждая возможные причины наблюдаемого эффекта, можно заключить, что, скорее всего, они связаны с пептидным и/или аминокислотным составом объекта исследования. В литературе нами встречен ряд данных о благоприятном воздействии пептидов и аминокислот на течение экспериментальной язвенной болезни. Так, например, синтетический дипептид глутамил-триптофан на индометациновой модели язвенной болезни показал гастропротекторный эффект, в основе которого лежало его цитопротекторное, антиоксидантное и иммуномодулирующее действие [6]; N-ацетилцистеин проявил себя как гастропротектор за счет антиоксидантных, противовоспалительных и антиапоптотических механизмов [8]; показано антиязвенное действие ликоплана, реализуемое через регуляцию метаболизма аминокислот [9]. По нашим данным, полученным при проведении аминокислотного состава лиофилизата тканей свиных почек, из которого экс-

трагировали пептидный комплекс, в него входят 12 аминокислот: лизин, тирозин, фенилаланин, лейцин, изолейцин, метионин, валин, пролин, треонин, серин, аланин, глицин [3]. Не исключено, что выявленный в ходе экспериментов гастропротекторный эффект пептидного комплекса из тканей свиных почек может быть обусловлен пептидами, в структуру которых входят указанные аминокислоты. Идентификация возможных механизмов такого действия станет целью наших дальнейших исследований.

Таким образом, приведенное исследование позволяет сделать вывод, что курсовое применение пептидного комплекса из тканей свиных почек в дозе 15 мг на крысу позволяет получить гастропротекторный эффект при экспериментальной «индометациновой» язве желудка. Введение препарата приводит к снижению количества глубоких полосовидных эрозий слизистой оболочки желудка и их глубины, уменьшению индекса Паулса, а также увеличению толщины слизистой оболочки желудка. Исследуемый пептидный комплекс может быть перспективным средством лечения и профилактики рецидивов язвенной болезни.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жарикова Г.В., Жариков А.Ю., Киселев В.И., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Кирьякова В.О. Влияние пептидного комплекса из тканей свиных почек на показатели свободнорадикального окисления при экспериментальной мочекаменной болезни // Сиб. науч. мед. журн. 2017. 37. (2). 17–21.
2. Жариков А.Ю., Жарикова Г.В., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Кирьякова В.О. К вопросу идентификации биологически активных веществ нового средства для лечения мочекаменной болезни // Бюл. мед. науки. 2017. (1). 28–31.
3. Жариков А.Ю., Киселев В.И., Салдан И.П., Жарикова Г.В., Лепилов А.В., Бобров И.П. Морфологическая оценка влияния пептидного комплекса из тканей свиных почек на течение экспериментальной мочекаменной болезни // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2017. 164. (8). 237–240.
4. Осадчук А.М., Коган Н.Ю., Кветной И.М. Показатели пролиферации и апоптоза в патогенезе и прогнозировании течения заболеваний желудка, ассоциированных с *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2007. 17. (4). 20–23.
5. Подопригорова В.Г. Оксидативный стресс и язвенная болезнь. М.: Медицина, 2004. 176 с.
6. Podoprigrorova V.G. Oxidative stress and peptic ulcer. Moscow: Medicine, 2004. 176 p. [In Russian].
7. Саватеева-Любимова Т.Н., Сивак К.В., Малинин В.В. Гастропротекторная активность анало-

гов дипептида глутамил-триптофана и мелатонина // Эксперим. и клин. фармакология. 2012. 75. (2). 17–21.

7. Goineau S., Castagné V. Complementarity of *in vitro* and *in vivo* models for the evaluation of gastroprotective effects of pharmacological substances // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2017. 31. (2). 155–164.

8. Soliman N.A., Zineldeen D.H., Katary M.A., Ali D.A. N-acetylcysteine a possible protector against

indomethacin-induced peptic ulcer: crosstalk between antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic mechanisms // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2017. 95. (4). 396–403.

9. Yang Y., Wang S., Bao Y.R., Li T.J., Yang G.L., Chang X., Meng X.S. Anti-ulcer effect and potential mechanism of licoflavone by regulating inflammation mediators and amino acid metabolism // *J. Ethnopharmacol.* 2017. 199. 175–182.

## GASTROPROTECTIVE ACTION OF THE PEPTIDE COMPLEX FROM PIG KIDNEYS AT EXPERIMENTAL «INDOMETHACINE» ULCER IN RATS

Samira Elshadovna LORENTS, Alexandr Yurjevich ZHARIKOV,  
Igor Petrovich BOBROV, Olesya Nikolaevna MAZKO,  
Olesya Gennadjevna MAKAROVA, Valeriy Ivanovich KISELEV

*Altay State Medical University of Minzdrav of Russia*  
656038, Barnaul, Lenin av., 40

The aim of the study was a macro and microscopic evaluation of the structural state of the gastric mucosa under conditions of application of a peptide complex from the tissues of porcine kidneys with the experimental indomethacin-induced stomach ulcer. Experiments were carried out on 16 male Wistar rats divided equally into 2 groups: control (modeling gastric ulcer) and experimental (modeling gastric ulcer + introduction of the peptide complex from the tissues of porcine kidneys at a dose of 15 mg). The peptide complex was obtained by acetic acid extraction from a lyophilized dried pig kidney homogenate. The model of indomethacin damage to the gastric mucosa was reproduced by single intragastric administration of indomethacin at a dose of 60 mg/kg in 1 ml of physiological saline. It was established that in animals of the control group in the gastric mucosa the administration of indomethacin caused the phenomena of expressed erosive gastritis. Against this background, in the experimental group, there were definite signs of restoring the normal structure of the gastric mucosa. It turned out that in the experimental group, in comparison with the control of the disease, the number of strip-like erosions decreased 2.2 times, the Pauls index decreased by 3.6 times (for both  $p < 0.001$ ). In addition, the average depth of erosion decreased by 85.6 % and the thickness of the gastric mucosa increased 1.2 times.

**Key words:** gastroprotective action, peptide complex, porcine kidneys.

*Lorents S.E.* – lecturer of the chair for pharmacology, e-mail: [pharm\\_s@mail.ru](mailto:pharm_s@mail.ru)

*Zharikov A.Yu.* – doctor of biological sciences, head of the chair for pharmacology, e-mail: [zharikov\\_a\\_y@mail.ru](mailto:zharikov_a_y@mail.ru)

*Bobrov I.P.* – doctor of medical sciences, head of morphological laboratory, e-mail: [ig.bobrov2010@yandex.ru](mailto:ig.bobrov2010@yandex.ru)

*Mazko O.N.* – candidate of biological science, head of biomedical laboratory, e-mail: [olesia.mazko@yandex.ru](mailto:olesia.mazko@yandex.ru)

*Makarova O.G.* – candidate of pharmaceutical sciences, senior researcher of biomedical laboratory, e-mail: [olesia552@mail.ru](mailto:olesia552@mail.ru)

*Kiselev V.I.* – doctor of medical sciences, corresponding member of the RAS, professor of the department of hominal physiology, e-mail: [vik@agmu.ru](mailto:vik@agmu.ru)

## ИЗУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I КАК ПЕРЕНОСЧИКА ПЛАЗМИДНЫХ ДНК НА МОДЕЛИ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС

Александр Владимирович РЯБЧЕНКО, Мария Владимировна КОТОВА,  
Наталья Викторовна ТРИФОНОВА, Роман Александрович КНЯЗЕВ,  
Лев Михайлович ПОЛЯКОВ

*НИИ биохимии*

*630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

Цель исследования – получение модифицированного варианта аполипопротеина А-I и изучение его способности переносить плазмидные ДНК в гепатоциты крыс в сравнении с нативной формой белка. **Материал и методы:** клонирование генов и получение рекомбинантных белков в *E. coli*, инкубирование белков в комплексе с плазмидой рTagGFP2-C *in vitro* на гепатоцитах крыс с последующим анализом клеток методом проточной цитометрии. **Результаты и обсуждение.** Модифицированный вариант апо А-I (на С-конце белка добавлены 10 аминокислотных остатков лизина) проникал в гепатоциты, специфически связывался с плазмидной ДНК, но не трансфицировал плазмиду в клетки.

**Ключевые слова:** аполипопротеин А-I, трансфекция, плаزمида, гепатоциты.

В настоящее время внимание исследователей привлекает проблема конструирования переносчиков нуклеиновых кислот, которые безопасно можно было бы использовать в области генной терапии. Одним из направлений в этой области является конструирование полипептидов, несущих различные функциональные модули: сигналы ядерной локализации; лиганды для распознавания полипептидом определенного типа клеток; домены, конденсирующие нуклеиновые кислоты; пептиды, способствующие высвобождению комплексов «полипептид – нуклеиновая кислота» из эндосом, и другие [3, 7]. В настоящем исследовании мы предположили, что основой для такого полипептида-переносчика может быть белковый компонент липопротеинов высокой плотности – аполипопротеин А-I (апо А). Многие клетки организма имеют на мембранах специфические рецепторы к апо А [9], особенно большое их количество обнаружено в клетках печени и опухолей. Это свойство может быть использовано в качестве одной из функций полипептида на осно-

ве апо А при доставке плазмидных ДНК (пДНК) в клетки путем рецептор-опосредованного эндоцитоза. Другой особенностью апо А является его свойство взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами. Так, ранее в НИИ биохимии было показано, что апо А связывается с эукариотической ДНК [1]. Эти предпосылки – специфическое (или слабоспецифическое) взаимодействие апо А с ДНК и рецептор-опосредованный перенос апо А в клетку – позволили нам предположить возможность использования данного белка в качестве переносчика пДНК в клетки млекопитающих. Мы также предположили, что можем увеличить аффинность апо А к ДНК путем введения в структуру белка небольшого фрагмента, состоящего из повтора аминокислотных остатков лизина, положительно заряженных при нейтральном рН. Известно, что богатые лизином фрагменты гистоновых белков способны связываться с ДНК [6].

В связи с этим целью настоящего исследования явилось получение модифицированного апо А человека, введение в его структуру кон-

*Рябченко А.В.* – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, e-mail: borrelia@mail.ru

*Котова М.В.* – младший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, e-mail: zerokiri@mail.ru

*Трифорова Н.В.* – младший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, e-mail: nataliya-tverdohleb@yandex.ru

*Князев Р.А.* – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, e-mail: Knjazev\_roman@mail.ru

*Поляков Л.М.* – д.м.н., проф., зав. лабораторией медицинской биотехнологии, e-mail: plm@niibch.ru

денсирующего ДНК фрагмента, а также изучение способности рекомбинантного белка апо АрК10 переносить пДНК в гепатоциты крыс в сравнении с белком нативной формы.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для амплификации гена апо А была использована плаزمид, полученная ранее в нашей лаборатории, несущая ген апо А человека [5]. Для амплификации использовали праймеры, представленные в таблице. ПЦР проводили на амплификаторе МС-2 («ДНК-технология», Москва) с помощью набора реагентов с Taq ДНК-полимеразой («Евроген», Россия). Состав реакционной смеси использовали согласно инструкции к набору. Для клонирования гена использовали модифицированный нами ранее вектор рЕТ36b(+) («Novagen», США) [4]. Для модификации гена в составе плазмиды рЕТ36b(+) по сайту XhoI на 3'-конце гена апо А был встроено дуплекс, кодирующий 16 аминокислотных остатков (а. о.), в том числе 10 а. о. лизина. Для получения дуплекса использовались олигонуклеотиды № 12 и № 13 (см. таблицу). Олигонуклеотиды синтезированы ЗАО «Биосан» (Россия).

Плазмиды гидролизуются эндонуклеазами рестрикции FauND I (прототип Nde I) и Sfr274 I (прототип Xho I) согласно инструкции фирмы-производителя ферментов «СибЭнзим» (Россия). Фрагменты ДНК разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле с последующим извлечением нужного фрагмента из геля набором «Cleanup Standard» («Евроген»). Фрагменты ДНК лигировали с помощью фермента Т4 ДНК-лигазы согласно инструкции фирмы-производителя («СибЭнзим»). Трансформацию клеток *E. coli* плазмидными ДНК проводили с помощью электропорации согласно методике фирмы-производителя прибора («PeqLab», «Biotechnologie GmbH», Германия). Рекомбинантные клоны *E. coli* отбирали на селективной среде LB (lysogeny broth), содержащей канамицин (30 мкг/мл).

Для трансфекции использовали плазмиду рTagGFP2-С (~4,7 тыс. пар нуклеотидов (п. н.)), содержащую ген *gfp* под контролем раннего промотора цитомегаловируса («Евроген»). Плазмиды нарабатывали в клетках *E. coli* штамм «NovaXGF» («Novagen», США) в среде LB в присутствии 30 мкг/мл канамицина, из клеток выделяли набором «PlasmidMidiprep» («Евроген»). Оценку качества плазмид, анализ фрагментов ДНК и продуктов ПЦР осуществляли методом электрофореза в 0,8–1,2%-м агарозном геле с последующим окрашиванием ДНК бромистым этидием.

Для наработки биомассы использовали клетки *E. coli* штамм BL21(DE3). Из отобранного клонна *E. coli* выращивали ночную культуру в среде LB объемом 5 мл при 37 °С. На следующий день ночную культуру переносили в двухлитровую колбу с 500 мл свежей среды LB, содержащей 30 мкг/мл канамицина. Клетки выращивали при активном перемешивании и 37 °С до оптической плотности  $D_{600} = 0,8–1,2$  отн. ед. и добавляли индуктор изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид до 0,05 мМ. Далее клетки инкубировали 4 ч при аналогичных условиях либо 18 ч при 30 °С, после чего осаждали центрифугированием при 3000 об/мин в течение 20 мин, осадок замораживали и хранили до выделения белка. Клеточные лизаты и белки анализировали в 12%-м полиакриламидном геле (ПААГ) по Лэммли.

Рекомбинантные белки выделяли из клеток-продуцентов *E. coli* с помощью аффинной хроматографии на сорбенте «Ni-NTA Superflow» («Qiagen», США) в денатурирующих условиях, обессоливали методом диализа против фосфатно-солевого буфера рН 7,4–7,5 и стерилизовали фильтрованием через фильтр с диаметром пор 0,22 мкм («Syringe-DivenFilters», «JetBiofilm», Корея). Конъюгаты получали путем инкубирования белков с флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ) в течение ночи в карбонатном буфере рН 9,5 в соотношении 25 мкг ФИТЦ на 1 мг белка, от избытка метки отделяли с помощью

## Таблица

Используемые в работе олигонуклеотиды

Название	Структура (5'-3')
Прямой праймер № 3 Fa	CTGGCAGCAAGATGATCCGCCGAGAGC
Прямой праймер № 3 Fb	TGCGCCATTTCTGGCAGCAAGATGATCC
Прямой праймер № 3 Fc	TATCTTCATATGCGCCATTTCTGGCAGC
Обратный праймер № 6 R	TACATCTCGAGCTGGGTGTTACGCTTCTTAG
№ 12 (смысловый олигонуклеотид)	TTCGACGGCCCGGCGAAAAAGAAAAAGAAAT TAAAGAAAAAGAAAAAGC
№ 13 (антисмысловый олигонуклеотид)	TTCGAGCTTTTCTTTTCTTTAATTTCTTTTTC TTTTTCGCCGGGCCG

гель-фильтрации. Образование конъюгата подтверждали анализом на спектрофлуорофотометре на наличие характерных для ФИТЦ пиков возбуждения (490 нм) и эмиссии (520 нм), а также в ПААГ. Концентрацию белков и пДНК измеряли спектрофотометрически ( $\lambda = 280$  и  $260$  нм соответственно) на спектрофотометре «Evolution 300» («Thermo Scientific», США), содержание конъюгата «апо А – ФИТЦ» – на спектрофлуорофотометре RF-5301PC («Shimadzu», Япония) в ЦКП «Спектрометрические измерения» на базе НИИ биохимии.

Гепатоциты крыс выделяли методом рециркуляторной ферментативной перфузии печени с использованием 0,03%-го раствора коллагеназы (активность  $> 125$  ед/мг, «ICN Biomedicals, Inc», США), как описано в работе [2]. Инкубирование гепатоцитов проводили в среде RPMI-1640 («Биолот», Россия), содержащей 20 мМ НЕРЕS, 10 % эмбриональной сыворотки коров, 2 мМ L-глутамин, 100 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл гентамицина, 5,6 мМ глюкозы, в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе («Cole-Parmer», США) в атмосфере, содержащей 5 %  $\text{CO}_2$  и 95 % воздуха, при температуре 37 °С, используя 24-луночные планшеты («Orange Scientific», США). Плотность клеток в первичной монослойной культуре составляла  $\sim 800$  кл/мм<sup>2</sup>. Клетки инкубировали с комплексом «апо А – ФИТЦ» в течение 3 ч, его концентрация составляла 5, 10, 20, 40 и 80 мкг/мл. С комплексом «апо А – пДНК» клетки инкубировали в течение 4 ч, после чего меняли среду на свежую и инкубировали еще двое суток. На одну лунку наносили 1,5 мкг пДНК и различные количества апо А – 10, 20 и 40 мкг. По окончании инкубирования клетки снимали с планшетов, отмывали от среды, фиксировали 70%-м этанолом и анализировали с помощью проточной цитометрии на приборе CytoFLEX («Beckman Coulter Inc.», США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

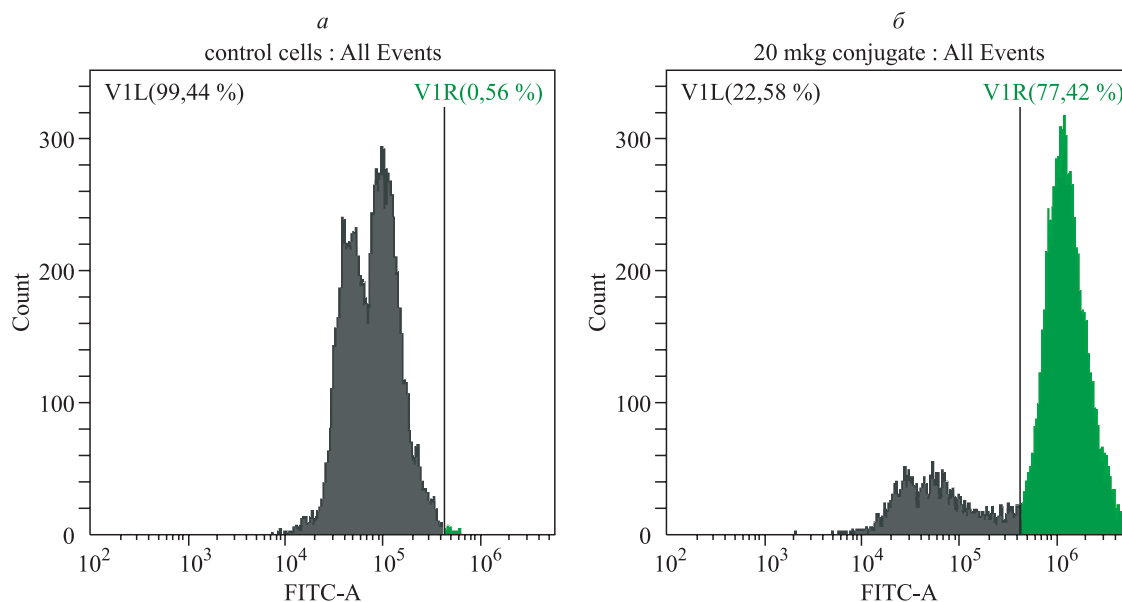
Ранее в нашей лаборатории получен продуцент рекомбинантного белка апо А на основе клеток *E. coli* [5]. Эта конструкция была использована в качестве матрицы для последовательной амплификации гена с помощью пар праймеров № 3 Fa + № 6 R, № 3 Fb + № 6 R и № 3 Fc + № 6 R (см. таблицу). Это позволило ввести с 5'-конца гена фрагмент ДНК, кодирующий пептид проформы белка (Agr-His-Phe-Trp-Gln-Gln), поскольку известно, что без данного пептида уровень синтеза белка в клетках *E. coli* очень низок. Праймеры № 3 Fc и № 6 R в своей структуре несли сайты эндонуклеаз рестрикции Nde I

и Xho I соответственно. Ампликон гена апо А был встроен в модифицированный нами вектор pET36b(+) [4], при этом на 3'-конце гена апо А после сайта эндонуклеазы рестрикции Xho I появлялась последовательность ДНК, кодирующая 8 а. о. гистидина, что позволяло в дальнейшем выделять белок с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии. При трансформации клеток было отобрано несколько клонов, положительных в ПЦР, несущих вставку гена апо А и способных синтезировать белок при индукции клеток-продуцентов 0,05 мМ изопропил- $\beta$ -D-1-тиогалактопиранозида. Последующее выделение белка апо А из этих клонов и анализ фракций в ПААГ подтвердило правильность выбора. Выход белка апо А составил около 50 мг/л культуры клеток продуцента. Один из клонов был применен для выделения пДНК, которая в дальнейшем использовалась для модификации гена апо А.

В полученную пДНК по сайту Xho I между геном апо А и 8 а. о. гистидина был встроен дуплекс, кодирующий 16 а. о., десять из которых представляли полилизиновый фрагмент, поделенный на две части остатком лейцина (LDGPAKKKKLKKKKK). Дуплекс был получен путем эквимольной гибридизации олигонуклеотидов № 12 и № 13, при этом дуплекс образовывал «липкие концы» для встройки в плазмиду, гидролизованную по сайту рестрикции Xho I. Клоны, несущие вставку полилизинового фрагмента в составе плазмиды, были отобраны методом ПЦР и проанализированы в ПААГ на способность синтезировать модифицированный белок апо АрК10. Часть положительных клонов была отобрана в музей и далее использовалась для наработки биомассы и выделения белка апо АрК10.

В качестве клеточной модели для проверки способности полученных рекомбинантных белков переносить пДНК использовали изолированные гепатоциты крыс. На первом этапе была изучена способность гепатоцитов поглощать апо А и апо АрК10 и оптимизированы условия реализации этого эффекта. Ранее нами продемонстрирована принципиальная способность конъюгата «апо А – ФИТЦ» проникать в гепатоциты [13]. Цитофлуориметрический анализ гепатоцитов, проинкубированных с конъюгатом «апо А – ФИТЦ», показал, что насыщение клеток конъюгатом происходило за 3 ч при концентрации конъюгата 20 мкг/мл. Доля клеток, поглотивших конъюгат, достоверно не различалась для обоих вариантов конъюгатов («апо А – ФИТЦ» и «апо АрК10 – ФИТЦ») и составляла в среднем около 80 %. При увеличении времени инкубиро-





**Рис. 1.** Анализ на проточном цитофлуориметре гепатоцитов: а – инкубированных без конъюгата, б – инкубированных с 20 мкг/мл конъюгата «апо АрК10-ФИТЦ»

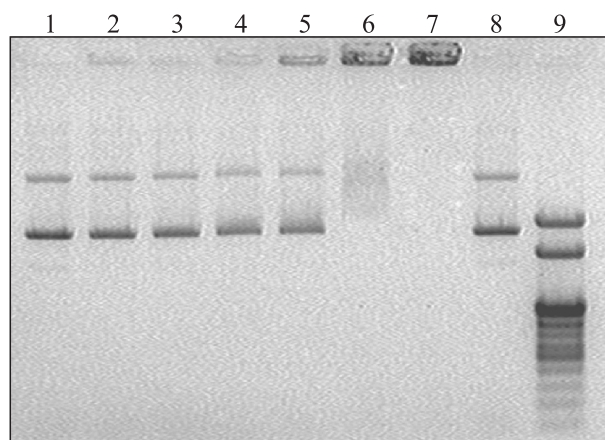
вания или концентрации конъюгатов доля клеток, поглощавших конъюгат, существенно не изменялась. Типичный пример цитофлуориметрического анализа гепатоцитов, инкубированных с конъюгатом и без него, представлен на рис. 1.

На втором этапе для проверки способности трансфицировать гепатоциты полученными белками клетки инкубировали с комплексами «апо А – пДНК». Инкубирование гепатоцитов с комплексами в течение 4 ч с последующим инкубированием клеток без комплексов в течение двух суток показало, что достоверного увеличения доли флуоресцирующих клеток в сравнении с контрольными клетками, инкубированными только с пДНК, не произошло. Вероятной причиной такого результата могло быть несколько факторов, в том числе недостаточно специфичное связывание белков с пДНК для формирования стабильных комплексов «апо А – пДНК».

Для проверки предположения о недостаточном специфическом связывании белков с пДНК мы исследовали взаимодействие плазмиды рTagGFP2-С с обоими вариантами апо А методом ретардации фрагментов ДНК в агарозном геле. Соотношение белок/пДНК по массе варьировало от 0,5 : 1 до 32 : 1; количество пДНК на дорожку составляло 0,5 мкг. Смеси белок/пДНК предварительно инкубировали 15–20 мин в фосфатно-солевом буфере при комнатной температуре, затем к образцам добавляли ~1/10 часть 100%-го глицерина и образцы сразу же вносили в карманы геля. В результате мы обнаружили отличия в подвижности исследуемых образцов пДНК только с модифицированным белком апо АрК10, причем

почти полная задержка пДНК в геле происходила при соотношении белок/ДНК, равном 16 : 1 (рис. 2).

Задержка пДНК в агарозном геле свидетельствует о том, что введение в структуру апо А фрагмента из 10 а. о. лизина увеличило его способность конденсировать на себе пДНК. Однако либо приобретенной аффинности к ДНК было недостаточно для переноса пДНК белком апо АрК10 в клетку, либо отрицательную роль в этом процессе играли другие факторы. В част-



**Рис. 2.** Анализ комплексов апо АрК10-рTagGFP2-С в 0,8%-м геле агарозы. Дорожки: 1 и 8 – контрольная пДНК рTagGFP2-С, инкубированная без апо АрК10; 2, 3, 4, 5, 6, 7 – пробы пДНК рTagGFP2-С, инкубированные с избытком апо АрК10 по массе в 1, 2, 4, 8, 16 и 32 раза соответственно; 9 – ДНК-маркер 100–1000 п. н., 2 и 3 тыс. п. н.

ности, при недостаточной защите ДНК белком нуклеиновая кислота может деградировать в инкубационной среде под воздействием нуклеаз сыворотки крови [3, 7]. Кроме того, в литературе описаны подобные результаты с пептидами, богатыми лизином или гистоновыми фрагментами размером от 30 а. о и более. Причем соотношения, при которых плазмиды полностью задерживались в карманах геля, варьировали от 1 : 0,5 до 1 : 2 [8, 10]. Поэтому вполне логично предположить, что увеличение в структуре белка апо АрК10 полилизинового фрагмента до 20–30 а. о. усилит его аффинность к пДНК и тем самым увеличит трансфицирующую способность.

Другими факторами низкого уровня трансфекции клеток могли быть отсутствие в полипептиде апо АрК10 сигнала ядерной локализации, а также фрагмента, выполняющего роль фьюзогенного пептида. В литературе показано, что использование различных сигналов ядерной локализации в полипептидах-переносчиках пДНК увеличивает долю флуоресцирующих клеток в 3–5 раз [12, 14]. Кроме того, отсутствие фьюзогенных фрагментов отрицательно сказывается на уровне трансфекции [11]. Таким образом, несмотря на то, что полученный белок апо АрК10 эффективно проникает в гепатоциты, он, как носитель нуклеиновых кислот, также должен влиять на высвобождение комплекса «белок-ДНК» из эндосом в цитоплазму, эффективно проникать в ядерный аппарат для дальнейшего запуска экспрессии генов в составе переносимых пДНК.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты в совокупности с полученными ранее данными говорят о том, что в нативной форме апо А человека не способен переносить пДНК в клетку. Однако при определенной модификации – введении полилизинового мотива (либо любого другого фрагмента, способного связывать нуклеиновые кислоты), сигнала ядерной локализации или фьюзогенного фрагмента – белок может быть использован как основа для конструирования переносчика нуклеиновых кислот в клетку.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Панин Л.Е., Гимаутдинова О.И., Кузнецов П.А., Величко Е.Ю., Базалук В.В. Структура сайтов взаимодействия ДНК эукариот с комплексами стероидный гормон–аполипопротеин А-I // Молекул. биология. 2007. 41. (4). 583–588.
2. Панин Л.Е., Князев Р.А., Суменкова Д.В., Гуца Р.С., Поляков Л.М. Роль аполипопротеина Е в регуляции биосинтеза белка и нуклеиновых кислот в культуре гепатоцитов крыс // Сиб. науч. мед. журн. 2007. 27. (1). 63–66.
3. Розенкранц А.А., Уласов А.В., Слестникова Т.А., Храпцов Ю.В., Соболев А.С. Использование процессов внутриклеточного транспорта для доставки лекарств в заданный компартмент клетки // Биохимия. 2014. 79. (9). 1148–1168.
4. Рябченко А.В., Караваев В.С., Беклемишев А.Б. Сравнительный структурный и иммунохимический анализ рекомбинантных антигенов OspC новосибирских изолятов спирохет *Borrelia garinii* и *Borrelia afzelii* // Сиб. науч. мед. журн. 2010. 30. (2). 6–12.
5. Рябченко А.В., Котова М.В., Поляков Л.М. Конструирование суперпродукента рекомбинантного аполипопротеина А-I человека на основе клеток *Escherichia coli* // Сиб. науч. мед. журн. 2015. 35. (6). 16–21.
6. Соловьева В.В., Кудряшова Н.В., Ризванов А.А. Перенос рекомбинантных нуклеиновых кислот в клетки (трансфекция) с помощью гистонов и других ядерных белков // Гены и клетки. 2011. 6. (3). 29–40.
7. Canine B.F., Hatefi A. Development of recombinant cationic polymers for gene therapy research // Adv. Drug Deliv. Rev. 2010. 62. (15). 1524–1529.
8. Canine B.F., Wang Y., Hatefi A. Biosynthesis and characterization of a novel genetically engineered polymer for targeted gene transfer to cancer cells // J. Control. Release. 2009. 138. (3). 188–196.
9. Farve G., Tazi K., Le G., Bennis F., Hachem H., Soula G. High density lipoprotein3 binding sites are related to DNA biosynthesis in the adenocarcinoma cell line A549 // J. Lipid. Res. 1993. 34. (7). 1093–1106.
10. Jung H.J., Hwang D.S., Wei Q.D., Cha H.J. Carassius auratus-originated recombinant histone H1 C-terminal peptide as gene delivery material // Biotechnol. Prog. // 2008. 24. (1). 17–22.
11. Nouri F., Wang X., Dorrani M., Karjoo Z., Hatefi A. A recombinant biopolymeric platform for reliable evaluation of the activity of pH-responsive amphiphile fusogenic peptides // Biomacromolecules. 2013. 14. (6). 2033–2040.
12. Ray M., Tang R., Jiang Z., Rotello V.M. Quantitative tracking of protein trafficking to the nucleus using cytosolic protein delivery by nanoparticle-stabilized nanocapsules // Bioconjug. Chem. 2015. 26. (6). 1004–1007.
13. Ryabchenko A.V., Kotova M.V., Tverdohleb N.V., Knyazev R.A., Polyakov L.M. Production and analysis of biological properties of recombinant human apolipoprotein A-I // Bull. Exp. Biol. Med. 2015. 160. (1). 129–133.
14. Soltani F., Sankian M., Hatefi A., Ramezani M. Development of a novel histone H1-based recombinant fusion peptide for targeted non-viral gene delivery // Int. J. Pharm. 2013. 441. (1). 307–315.

## **STUDY OF RECOMBINANT APOLIPOPROTEIN A-I AS A CARRIER OF PLASMID DNA TO THE RAT HEPATOCYTES**

**Aleksandr Vladimirovich RYABCHENKO, Mariya Vladimirovna KOTOVA,  
Nataliya Viktorovna TRIFONOVA, Roman Aleksandrovich KNYAZEV,  
Lev Mikhaylovich POLYAKOV**

*Institute of Biochemistry  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

---

Purpose of the study was to obtain a modified variant of apolipoprotein A-I and studying its ability to transfer plasmid DNA into rat hepatocytes and comparison with the native form of the protein. **Material and methods:** gene cloning and production of recombinant proteins in *E. coli*, incubation of proteins in complex with plasmid pTagGFP2-C in vitro with rat hepatocytes, followed by cell analysis by flow cytometry. **Results and discussion.** A modified version of apo A-I (10 amino acid residue lysine added at the C-terminus of the protein) penetrated into the hepatocytes, specifically bound to the plasmid DNA, but did not transfect the plasmid into the cells.

---

**Key words:** apolipoprotein A-I, transfection, plasmid, hepatocyte.

*Ryabchenko A.V. – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory of medical biotechnology,  
e-mail: borrelia@mail.ru*

*Kotova M.V. – junior researcher of laboratory of medical biotechnology, e-mail: zerokiri@mail.ru*

*Trifonova N.V. – junior researcher of laboratory of medical biotechnology, e-mail: nataliya-tverdohleb@yandex.ru*

*Knyazev R.A. – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory of medical biotechnology,  
e-mail: Knjazev\_roman@mail.ru*

*Polyakov L.M. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory of medical biotechnology,  
e-mail: plm@niibch.ru*

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ДЕКСТРАЗИДА НА ЭКСПРЕССИЮ КАТЕПСИНОВ В И D МАКРОФАГАМИ *IN VITRO*

Дмитрий Владимирович НЕЩАДИМ<sup>1</sup>, Сергей Алексеевич АРХИПОВ<sup>1,2</sup>,  
Вячеслав Алексеевич ШКУРУПИЙ<sup>1,2</sup>, Елена Степановна АХРАМЕНКО<sup>1</sup>,  
Александр Васильевич ТРОИЦКИЙ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ экспериментальной и клинической медицины  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

<sup>2</sup> Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630099, г. Новосибирск, Красный просп., 52

В экспериментах *in vitro* исследовали влияние фосфатидилхолиновых липосом (ЛП) с декстразидом (ДЗ) – противотуберкулезным средством (конъюгат окисленного декстрана молекулярной массой 60 кДа с гидрази́дом изоникотиновой кислоты) на экспрессию перитонеальными макрофагами (МФ) мышей катепсинов В и D. В экспериментах использовали ЛП двух размеров (0,15–0,20; 0,20–0,45 мкм). Культивирование МФ в культуральной среде, содержащей ЛП с декстразидом (ЛП-ДЗ) с размерами 0,15–0,20 мкм и 0,20–0,45 мкм, в течение 1 сут не приводило к увеличению количества МФ, экспрессирующих катепсины В и D. При использовании ЛП-ДЗ всех размеров наблюдали увеличение уровня экспрессии катепсинов В и D. Этот эффект был более выражен при использовании ЛП-ДЗ размерами 0,15–0,20 мкм. Возможно, что увеличение экспрессии исследуемых катепсинов МФ при эндцитозе ими ЛП-ДЗ может быть обусловлено активацией МФ окисленным декстраном, входящим в состав декстразида. Результаты исследования могут быть полезны для понимания механизмов, лежащих в основе биологических эффектов, вызываемых липосомальными формами противотуберкулезных лекарственных средств, опосредованных МФ, – основными акцепторами ЛП-ДЗ в месте персистенции *Mycobacterium tuberculosis*.

**Ключевые слова:** липосомы, декстразид, макрофаги, экспрессия, катепсины, *in vitro*.

Разработка корпускулярных носителей лекарственных средств предполагает проведение исследований их биосовместимости с клетками-мишенями и иных биологических эффектов [7, 10, 12, 13]. Одно из условий, которое необходимо учитывать при разработке средств, предназначенных для борьбы с внутриклеточно персистирующими возбудителями инфекционных заболеваний, в частности *M. tuberculosis*, – это вероятность эффектов, приводящих к снижению фагоцитозной и микробицидной активности макрофагов (МФ). Известно, что к факторам, обеспечивающим высокую антимикобактериальную способность МФ, относятся лизосомальные гидролазы – протеазы.

В ряде работ показано [4, 8, 9], что липосомы (ЛП) и декстразиды (ДЗ), синтезированные путем конъюгации окисленных декстранов с

гидрази́дом изоникотиновой кислоты, могут представлять интерес как перспективное противотуберкулезное средство для подавления персистирующих в вакуолярно-лизосомальном аппарате МФ *M. tuberculosis*. Это позволяет снижать общетоксические и гепатотоксические осложнения лечения [9, 11, 12]. Однако эффекты композиций ЛП с ДЗ (ЛП-ДЗ), опосредованные МФ, в частности их влияние на экспрессию лизосомальных гидролитических ферментов, не были изучены. К лизосомальным протеазам, обладающим микробицидной активностью, относят катепсины В и D [2, 6]. В этой связи представляется полезным исследовать эффекты ЛП-ДЗ, а также их компонентов: «пустых» ЛП и «свободного» ДЗ (без ЛП), на гидролитический потенциал МФ, в частности катепсина В и D.

**Нещадим Д.В.** – к.б.н., научный сотрудник, e-mail: d.neshchadim@mail.ru

**Архипов С.А.** – д.б.н., зав. лабораторией, e-mail: arhipowsergei@yandex.ru

**Шкурупий В.А.** – академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., проф. кафедры патологической физиологии, e-mail: sck@centercem.ru

**Ахраменко Е.С.** – научный сотрудник

**Троицкий А.В.** – к.м.н., зав. лабораторией, e-mail: pharm2008@yandex.ru

Цель исследования – изучить влияние липосом различной размерности, содержащих конъюгат окисленного декстрана с молекулярной массой 60 кДа с гидразидом изоникотиновой кислоты, на экспрессию перитонеальными макрофагами катепсина В и D *in vitro*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Изучение биологических эффектов «пустых» ЛП и ЛП-ДЗ (ЛП, включающих конъюгат гидразида изоникотиновой кислоты с окисленным декстраном с молекулярной массой 60 кДа [1]), проводили *in vitro* на МФ, выделенных из перитонеального транссудата мышей-самцов линии BALB/c 2-месячного возраста, с массой тела 21–22 г, полученных из питомника НИИ фундаментальной и клинической иммунологии (г. Новосибирск). Декстран представляет собой инфузионный раствор компании ОАО «Биохимик» (г. Саранск). Получение окисленных форм декстрана и конъюгата изониазида с окисленным декстраном было осуществлено на базе АО ФНПЦ «Алтай» (г. Бийск). Физико-химические свойства окисленного декстрана: степень окисления белков 2–5 %, степень чистоты 99 %, доля несгораемых примесей менее 0,1%, содержание влаги не более 10 %, молекулярная масса 60 кДа.

Перитонеальные МФ получали после выведения животных из эксперимента путем дислокации позвонков в шейном отделе под легким эфирным наркозом. Клетки из перитонеального транссудата эксплантировали в культуру и культивировали в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub> при 37 °С в пластиковых чашках Петри (40 мм) в течение 3 ч на покровных стеклах для прикрепления МФ (10<sup>6</sup> клеток в 1,5 мл среды 199, содержащей 10 % сыворотки эмбрионов коров). Через 3 ч неадгезированные клетки смывали средой для культивирования. Полученные первичные культуры МФ инкубировали в течение 24 ч с целью их адаптации к условиям культивирования для последующих экспериментальных воздействий.

Для получения ЛП-ДЗ 20 мг фосфатидилхолина (Sigma, США) помещали в 2 мл раствора, содержащего 0,9%-й водный раствор NaCl и ДЗ в концентрации 10 мг/мл [13, 14]. Для получения ЛП-ДЗ заданной размерности полученную суспензию многократно продавливали через ацетат-целлюлозные фильтры (Sartorius, Германия), первоначально через фильтр с диаметром пор 0,8 мкм, затем через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и на завершающем этапе через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм. В результате получали фракции ЛП-ДЗ в размерных диапазонах 0,15–0,20 мкм и 0,20–0,45 мкм [1]. «Пустые» липосомы получали по аналогичной технологии:

на начальном этапе их получения 20 мг фосфатидилхолина помещали в 2 мл 0,9%-го водного раствора NaCl, далее проводили процедуры по приведенной выше схеме.

Исследование влияния ЛП-ДЗ на экспрессию катепсина В и D МФ проводили с учетом размеров ЛП (0,15–0,20, 0,20–0,45 мкм). Дополнительно исследовали биологические эффекты «пустых» ЛП тех же размерностей (0,15–0,20, 0,20–0,45 мкм), соответствующих эквиваленту концентрации фосфатидилхолина 100 мкг/мл. В качестве общего контроля служили интактные культуры перитонеальных МФ. Исследования влияния ЛП и ЛП-ДЗ на экспрессию катепсина В и D МФ проводили через 24 ч после их внесения в первичные культуры МФ. Внесение ЛП-ДЗ и ЛП в культуры МФ осуществляли путем замены изначальной среды культивирования на среду, содержащую ЛП-ДЗ или ЛП.

Иммуноцитохимические исследования МФ проводили непрямой иммуноцитохимическим методом. МФ фиксировали 4%-м водным раствором нейтрального формалина, катепсина демаскировали тритоном X-100 (0,3%-й раствор в фосфатном буфере, pH 7,2). Экспрессию МФ ферментов выявляли при помощи биотинилированных поликлональных антител козы к катепсину В (С. N. BAF965; R&D, США) и моноклональных IgG-антител кролика к катепсину D (С. N. ab75852; Abcam, США). Для визуализации кроличьих первичных антител использовали полимерную систему ImmPRESS Anti-Rabbit Ig (peroxidase) Polymer Detection Kit – Vector Labs MP-7401-15 (США). Для визуализации биотинилированных антител использовали систему визуализации R.T.U. Vectastain Kit (Vectorlabs, США). Окраску препаратов проводили в растворе хромогена диаминобензидина, содержащем H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (BD DAB Kit, США). В культурах определяли количество МФ, высокоэкспрессирующих катепсин В и D (доля МФ, у которых более половины цитоплазмы имела ярко выраженную хромогенную коричневую окраску). Поскольку экспрессия исследуемых ферментов в той или иной степени выявлялась во всех МФ, количественный анализ экспрессии катепсина В и D во всех исследуемых популяциях МФ в контрольной и экспериментальной группах проводили при помощи компьютерной морфометрии. Размеры окрашенных зон цитоплазмы МФ измеряли по их общей площади (в квадратных пикселях) на пяти микрофотографиях каждой исследуемой культуры, зоны фотографирования выбирали случайным образом. Каждая экспериментальная группа включала 6 культур, которые фотографировали в микроскопе «AxioVision Z1» (Zeiss, Германия) при увеличении в 400 раз. Морфометриче-

ский анализ цифровых изображений окрашенных препаратов проводили с помощью программы «ВидеоТест Морфо 3.2», рассчитывали среднюю площадь окрашенных зон цитоплазмы в пересчете на один МФ – усредненный показатель экспрессии (в условных единицах).

Статистическую обработку результатов исследования проводили методами вариационной статистики. Данные представлены в виде средних арифметических величин и ошибок средних величин. Вероятность достоверности различий сравниваемых средних величин определяли с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Культивирование МФ в среде, содержащей «пустые» ЛП всех исследуемых размеров, ДЗ или ЛП-ДЗ не приводило к увеличению в культурах количества МФ с выраженной экспрессией катепсина В (рис. 1, а). При этом при инкубировании МФ с ДЗ в среднем (в пересчете на 1 клетку) экспрессия катепсина В в них возрастала в 1,7 раза (рис. 2, а), при инкубировании с ЛП-ДЗ с размерами 0,15–0,20 и 0,20–0,45 мкм – соответственно в 2,3 и 1,8 раза. Повышение экспрессии катепсина В МФ «пустыми» ЛП (в 1,9 раза) отмечено только при использовании ЛП мень-

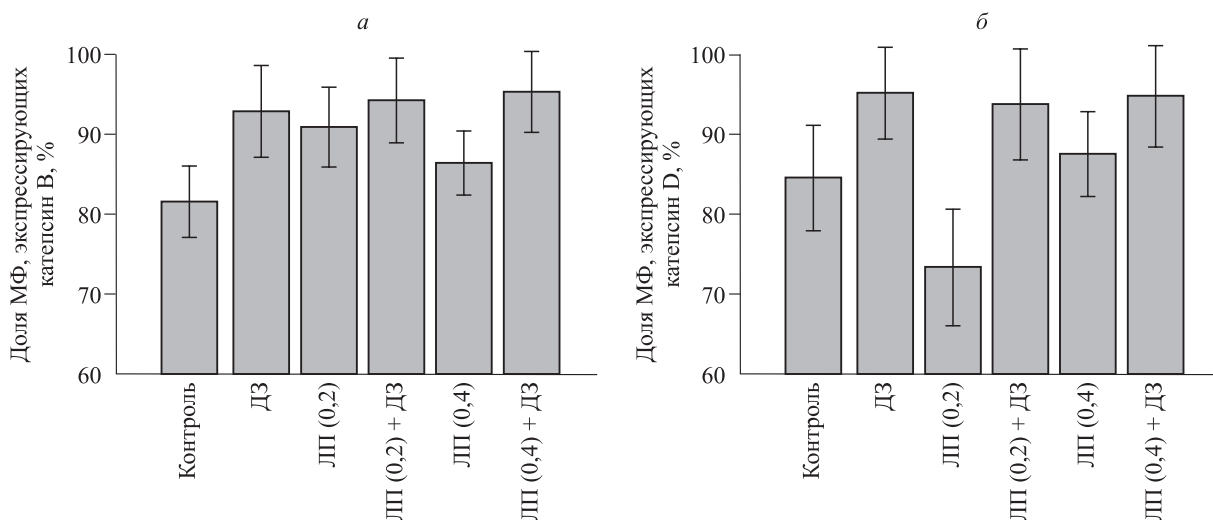


Рис. 1. Результаты исследования *in vitro* количества макрофагов (%), экспрессирующих катепсин В (а) и D (б), после добавления в среду ЛП, ДЗ и ЛП-ДЗ. Здесь и на рис. 2 ЛП (0,2) – липосомы с размерами 0,15–0,20 мкм, ЛП (0,4) – липосомы с размерами 0,20–0,45 мкм. Число проведенных экспериментов – 3

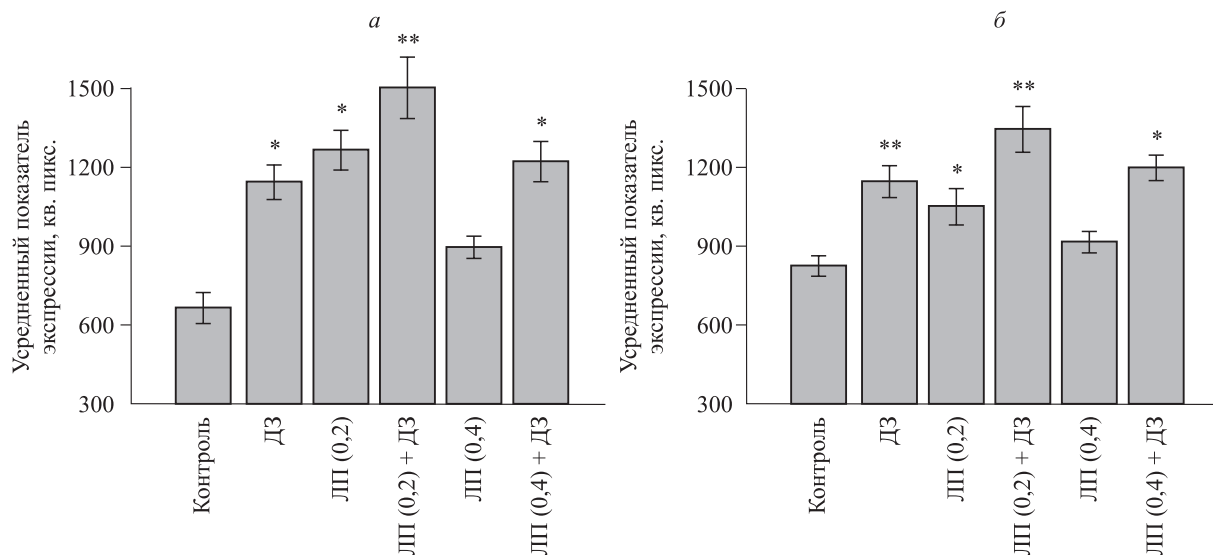


Рис. 2. Результаты исследования *in vitro* влияния ЛП, ДЗ и ЛП-ДЗ на уровни экспрессии макрофагами катепсина В (а) и D (б). Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей группы контроля: \* – при  $p < 0,05$ , \*\* – при  $p < 0,01$

ших размеров – 0,15–0,20 мкм (см. рис. 2, а). При изучении влияния ДЗ, ЛП и ЛП-ДЗ на экспрессию катепсина D МФ в целом были получены сходные закономерности (рис. 1, б, 2, б). Культивирование МФ в среде, содержащей «пустые» ЛП всех исследуемых размеров, ДЗ или ЛП-ДЗ не приводило к увеличению в культурах количества МФ с выраженной экспрессией катепсина D (см. рис. 1, б). В то же время при инкубировании МФ с ДЗ в среднем экспрессия катепсина D увеличивалась в 1,4 раза (см. рис. 2, б), при инкубировании клеток с ЛП-ДЗ с размерами 0,15–0,20 и 0,20–0,45 мкм – соответственно в 1,6 и 1,5 раза. Повышение экспрессии одного МФ «пустыми» ЛП (в 1,3 раза) наблюдалось только при использовании ЛП меньших размеров – 0,15–0,20 мкм (см. рис. 2, б).

Таким образом, в нашем исследовании показано, что фагоцитоз ЛП-ДЗ сопряжен с повышением экспрессии катепсина В и D. «Пустые» ЛП размером 0,15–0,20 мкм обладали такой же способностью, но в меньшей степени. При этом установлено, что определенный «вклад» в стимуляцию ЛП-ДЗ экспрессии катепсина В и D МФ вносит ДЗ. Выявленная нами способность МФ, поглотивших ЛП-ДЗ, изменять экспрессию лизосомальных катепсина свидетельствует о том, что ЛП, ДЗ и в большей степени ЛП-ДЗ способны модулировать функциональный статус МФ, определяющий их лизосомальный гидролитический потенциал, и, как следствие, могут изменить развитие типовых процессов, таких как воспаление (например, туберкулезное), а также способствовать элиминации *M. tuberculosis*. Как показано нами ранее, окисленный декстран может увеличивать частоту фагосомно-лизосомального слияния (число фагосом, содержащих *M. tuberculosis*) [8].

Ранее нами установлено, что количество ЛП-ДЗ, фагоцитированных МФ, возрастает при уменьшении размеров ЛП-ДЗ [9]. Очевидно, что и суммарный объем и количество захваченных ЛП меньших размеров будут больше, чем поглощенных ЛП-ДЗ более крупного размера. При этом будет захвачено и большее количество ингредиентов, размещенных в ЛП меньшего размера, нежели в более крупных. Следовательно, можно ожидать более выраженных биологических эффектов у МФ на большее количество действующих факторов (декстрана и изониазида), в том числе за счет увеличения времени «пребывания» ЛП-ДЗ в МФ (т.е. времени, необходимого для гидролиза как декстрана, так и микробактерий). Это обусловлено тем, что декстраны лизосомотропны, медленно биодеградируемы, а время их полувыведения из организма достигает

3–4 суток [8]. Следует также отметить, что ЛП-ДЗ с размерами 0,15–0,20 мкм в большей степени стимулировали экспрессию катепсина В и D МФ, чем «свободный» декстразид. Напротив, эффект стимуляции экспрессии катепсина В и D МФ ЛП-ДЗ с размерами 0,20–0,45 мкм был слабее, чем эффект ДЗ. Эти данные могут косвенно свидетельствовать о большей стабильности ЛП-ДЗ с размерами 0,20–0,45 мкм (т.е. о более медленном высвобождении ДЗ из комплекса ЛП-ДЗ), фагоцитированных МФ, по сравнению с ЛП-ДЗ с размерами 0,15–0,20 мкм. Таким образом, видимо, следует также принимать во внимание, что время пребывания ксенобиотических факторов (даже химически инертных) [3, 5] может быть сопряжено с активацией синтеза и секреции лизосомальных протеаз.

Известно, что МФ, при развитии различных инфекционных патологических процессов, в том числе и туберкулеза, способны увеличивать внутриклеточную продукцию лизосомальных катепсина, способствующих внутриклеточному гидролизу белковых структур микобактерий туберкулеза, фагоцитированных МФ [8, 14]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что ЛП-ДЗ, поглощенные МФ, в рамках заданной размерности способны модулировать их функциональный статус, определяющий способность инактивировать и дезинтегрировать фагоцитированные микобактерии туберкулеза. Возможно, увеличение экспрессии исследуемых катепсина МФ при эндоцитозе ими ЛП-ДЗ может быть обусловлено активацией МФ окисленным декстраном, входящим в состав декстразида. Результаты исследования могут быть полезны для понимания механизмов, лежащих в основе биологических эффектов, вызываемых липосомальными формами противотуберкулезных лекарственных средств, опосредованных МФ – основными акцепторами ЛП-ДЗ в месте персистенции *M. tuberculosis*.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» на базе НИИ экспериментальной и клинической медицины.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Архипов С.А., Шкурупий В.А., Нещадим Д.В., Ахраменко Е.С., Троицкий А.В., Ильин Д.А., Гуляева Е.П. Исследование биосовместимости липосом с противотуберкулезным средством (декстразидом) в культуре макрофагов // *Международ. журн. прикл. и фундам. исследований*. 2015. 9. (1). 74–78.

2. Герасимов А.М., Борзова Н.Ю., Керимкулова Н.В., Павлов А.В. Катепсин D – его физиологическая роль и использование в медицине (обзор литературы) // Клини. лаб. диагностика. 2009. (3). 3–4.
3. Долматов В.Ю. Ультрадисперсные алмазы детонационного синтеза: свойства и применение // Успехи химии. 2011. 70. (7). 706–708.
4. Кузякова Л.М. Конструирование трансдермальных липосомальных препаратов с заданными свойствами // Вестн. МГУ. Сер. 2. Химия. 2005. 46. (1). 74–79.
5. Нецадим Д.В., Архипов С.А., Шкурупий В.А., Ахраменко Е.С., Троицкий А.В., Карпов М.А. Модифицирующее влияние наноразмерных алмазов на гидролитический потенциал макрофагов *in vitro* // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2015. 159. (3). 382–385.
6. Халикова Т.А., Короленко Т.А., Ильницкая С.И. Липосомальные катепсины В, L и D при развитии экспериментальных лейкозов // Биомед. химия. 2009. (5). 621–634.
7. Шкурупий В.А., Овсянко Е.В., Надеев А.П., Извекова И.Я., Травин М.Л., Лузгина Н.Г. Динамика клеточных преобразований в кандидозных гранулемах лимфатических узлов при лечении лизосомотропной формой амфотерицина В в эксперименте // Морфология. 2005. 128. (4). 73–76.
8. Шкурупий В.А. Туберкулезный гранулематоз. Цитофизиология и адресная терапия. М.: Изд-во РАМН, 2007. 536 с.
9. Arkhipov S.A., Shkurupy V.A., Troitsky A.V., Luzgina N.G., Ufimceva E.G., Zaikovskaja M.V., Iljine D.A., Akhramenko E.S., Gulyaeva E.P., Bistрова T.N. Phagocytic activity of macrophages against liposomes with conjugates of oxidized dextrans and isonicotinic acid hydrazide during modeling of phagocytosis disturbances *in vitro* // Bull. Exp. Biol. Med. 2009. 148. (4). 689–691.
10. Matsuo H., Chevallier J., Mayran N., Le Blanc I., Ferguson C., Faure J., Blanc N.S., Matile S., Dubochet J., Sadoul R., Parton R.G., Vilbois F., Gruenberg J. Role of LBPA and Alix in multivesicular liposome formation and endosome organization // Science. 2004. 303. 5657. 531–534.
11. Shkurupy V.A., Arkhipov S.A., Tkachev V.O., Troitsky A.V., Luzgina N.G., Zaikovskaja M.V., Gulyaeva E.P., Bistрова T.N., Ufimceva E.G. In vitro effects of molecular nanosomal hybrid compositions with oxidized dextrans, conjugated with isonicotinic acid hydrazine on peritoneal macrophages // Bull. Exp. Biol. Med. 2008. 146. (5). 627–629.
12. Shkurupy V.A., Arkhipov S.A., Troitsky A.V., Luzgina N.G., Zaikovskaja M.V., Gulyaeva E.P., Bistрова T.N., Ufimceva E.G., Iljin D.A., Akhramenko E.S. Comparative study of the *in vitro* effect of nanoliposomes with oxidized dextrans on peritoneal cells // Bull. Exp. Biol. Med. 2008. 146. (6). 871–874.
13. Shkurupy V.A., Krasnov V.A., Gulyaeva E.P., Troitsky A.V., Grishin O.V., Bogdanova L.A., Machneva T.V., Auslender V.A., Korobeinikov M.V. Production of new antituberculosis drug and other medical preparations by electron beam treatment // Radiat. Phys. Chem. 2003. 63. 691–695.
14. Pires D., Bettencourt P., Carmo N., Anes E. Role of *Mycobacterium tuberculosis* outer-membrane porins in bacterial survival within macrophages // Drug Discov. Today. 2010. 15. (23-24). 1111–1112.



## **STUDY OF THE EFFECT OF LIPOSOMAL FORM OF DEXTRAZID ON THE EXPRESSION OF CATHEPSIN B AND D MACROPHAGES *IN VITRO***

**Dmitriy Vladimirovich NESHCHADIM<sup>1</sup>, Sergey Alekseevich ARKHIPOV<sup>1,2</sup>,  
Vyacheslav Alekseevich SHKURUPIY<sup>1,2</sup>, Elena Stepanovna AKHRAMENKO<sup>1</sup>,  
Alexandr Vasil'evich TROITSKIY<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Research Institute of Experimental and Clinical Medicine  
630117, Novosibirsk, Timakova str., 2*

<sup>2</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630099, Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

The effect of phosphatidylcholine liposomes (LP) with dextrazid (DZ) – antituberculosis agent (conjugate of oxidized dextran MW 60 kDa with isonicotinic acid hydrazide) on the expression of cathepsins B and D by peritoneal macrophages in mice was investigated *in vitro*. In the experiments we used LP of two sizes (0.15–0.20, 0.20–0.45  $\mu\text{m}$ ). Cultivation of MP in a culture medium containing LP with dextrazide (LP-DZ) of 0.15–0.20  $\mu\text{m}$  and 0.20–0.45  $\mu\text{m}$  for 1 day did not result in an increase in the number of macrophage expressing cathepsins B and D. The increase in the level of cathepsins B and D expression was observed with the use of LP-DZ of all sizes. This effect was more obvious when PL-DZ of 0.15–0.20 microns size were used. Probable the increase in the expression of macrophage cathepsins when LP-DZ were endocytosed by them was caused by the activation of macrophage-oxidized dextran which is the dextrazid component. The findings could be useful for understanding the mechanisms underlying the biological effects caused by liposomal forms of antiphthisic therapeutic agents mediated by MF which are the basic acceptors of LP-DZ and by the place of *M.tuberculosis* persistence.

---

**Key words:** liposomes, dextrazid, macrophages, cathepsins, expression, *in vitro*.

*Neshchadim D.V. – candidate of biological sciences, researcher, e-mail: d.neshchadim@mail.ru*

*Arkhipov S.A. – doctor of biological sciences, head of the laboratory, e-mail: arhipowsergei@yandex.ru*

*Shkurupiy V.A. – academician of RAS, honored worker of science of the RF, doctor of medical sciences, professor of the chair for pathologic physiology, e-mail: sck@centercem.ru*

*Akhramenko E.S. – researcher*

*Troitskiy A.V. – candidate of medical sciences, head of the laboratory, e-mail: pharm2008@yandex.ru*

## ПРОГЕНИТОРНЫЕ КЛЕТКИ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

Татьяна Васильевна РУСОВА, Анастасия Александровна ВОРОПАЕВА,  
Ольга Викторовна ФАЛАМЕЕВА

Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

Как и многие ткани взрослого человека и животных, суставной хрящ содержит популяцию стволовых / прогениторных клеток (клеток-предшественников), поддерживающих гомеостаз ткани, которые могут реагировать на травмы и способствовать заживлению суставного хряща. Исследование происхождения и функций этих клеток вносит вклад в развитие клеточных методов лечения, направленных на устранение очаговых дефектов в здоровом хряще, отсрочку начала дегенеративных заболеваний и снижение необходимости операций по замене сустава. В настоящем обзоре литературы приведены сведения о прогениторных клетках в суставном хряще.

**Ключевые слова:** суставной хрящ, прогениторные клетки.

Суставной хрящ богат матриксом, а его тканеспецифические клетки – хондроциты – занимают только 10 % объема ткани. Хрящ не содержит сосудов и нервных окончаний, такая структура позволяет ему функционировать в суставах в качестве смазывающей и несущей поверхности. Травма хряща часто распространяется от суставной поверхности до субхондральной кости, что приводит к развитию дегенеративных заболеваний суставов, таких как остеоартроз [8, 18]. Остеоартроз характеризуется прогрессирующей потерей суставного хряща, склерозом субхондральной кости, образованием остеофитов и синовиальным воспалением; клинические симптомы проявляются ограничением двигательной активности и болью.

Стволовые клетки являются перспективным типом клеток-кандидатов для регенерации тканей благодаря способности образовывать множественные типы тканей, особенно для восстановления тканей с дегенеративными изменениями, включая суставной хрящ. Несмотря на отсутствие естественной репаративной способности, суставной хрящ содержит популяцию клеток с качествами, подобными качествам прогениторных клеткам [15, 19, 23, 27, 33], и сходных с популяциями стволовых клеток, обнаруженными во многих других тканях [5, 32, 38, 40]. Клетки-предшественники обнаружены в суставном хря-

ще человека и животных. Они выделены, идентифицированы и охарактеризованы на основе способности к самообновлению, экспрессии поверхностных маркеров, родственных стволовым клеткам, и способности дифференцироваться по множественным линиям. Chang et al. [10] обнаружили стволовые / прогениторные клетки (СПК), определяемые как клетки CD105<sup>+</sup>/CD166<sup>+</sup>, в суставном хряще людей всех возрастов (эмбрионов, здоровых молодых (28–45 лет) и пожилых (60–75 лет) людей) при культивировании *in vitro*. Относительное количество прогениторных клеток в хряще снижается от ~95 % в эмбриональной закладке хряща до 4–6 % у взрослых и пожилых людей [9]. Однако споры о происхождении и функции этих клеток не прекращаются. В настоящем обзоре мы оперируем определением «СПК», или «клетки-предшественники».

**Источник стволовых/прогениторных клеток.** Первые сообщения о присутствии СПК в хряще поступили от групп исследователей Douthwaite et al. [14] и Alsalameh et al. [1]. Douthwaite et al. [17] идентифицировали СПК у 7-дневных телят как субпопуляцию хондроцитов поверхностной зоны суставного хряща, которые, размножаясь и мигрируя в пространстве ткани, обеспечивают ее рост. Эти клетки имели повышенную аффинность к фибронектину и высокую экспрессию фактора стволовых клеток Notch-1.

**Русова Т.В.** – к.б.н., старший научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела,  
e-mail: TRusova@niito.ru

**Воропаева А.А.** – к.б.н., научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела,  
e-mail: AVoropaeva@niito.ru

**Фаламеева О.В.** – д.м.н., главный научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела,  
e-mail: niito@niito.ru

Поверхностная зона суставного хряща представляет собой важный сигнальный центр, поскольку прямо связана с регуляцией развития и ростом ткани посредством дифференцированного синтеза матрикса [29, 37, 39], экспрессией многих факторов роста и их рецепторов в клетках суставной поверхности [2, 17, 20]. Их усилиями осуществляется рост ткани хряща сустава, обозначенный как «аппозиционный». Отсюда возникло предположение, что именно в поверхностной зоне содержится популяция клеток-предшественников, обеспечивающих аппозиционный рост ткани [20, 29]. Субпопуляция клеток поверхностной зоны отличается высоким сродством к фибронектину сыворотки, но не к другим лигандам, таким, как, например, коллаген типа I, II и IV, ламинин и тенасцин [11, 38]. Эти клетки способны образовывать большое количество колоний при изначально низкой плотности посева. Хондроциты средней зоны суставного хряща проявляют более высокое сродство к фибронектину, чем клетки поверхностной зоны (соответственно ~15 и ~10 %), но не имеют возможности образовывать колонии и могут представлять собой временно делящуюся популяцию.

Alsalameh et al. [1] сообщили о присутствии прогениторных клеток (авторы назвали их мезенхимальными прогениторными клетками, МПК) в суставном хряще взрослых людей в возрасте от 17 до 39 лет, в том числе страдающих остеоартрозом. Принадлежность хондроцитов к МПК авторы определяли по экспрессии белка CD105 и способности культивируемых клеток дифференцироваться в клетки других линий, адипоциты и остеобласты, которые не присутствуют в хряще, а также спонтанно не развиваются во время размножения хондроцитов в монослой при культивировании в соответствующей среде. Линию остеобластов определяли по способности экспрессировать белок CD166 – маркер МСК костного мозга. Клетки хряща, положительные по присутствию маркеров МПК и МСК (CD105<sup>+</sup>/CD166<sup>+</sup>), не экспрессировали маркеры дифференцированных хондроцитов, такие как коллаген типа II или CDMP-1 [11, 16]. Авторы подчеркивают, что относительное количество клеток CD105<sup>+</sup>/CD166<sup>+</sup> не зависит от возраста в обследованной группе молодых здоровых людей. Существование СПК в суставном хряще человека подтвердили многие исследователи [15, 16, 23, 35].

Yu et al. [42] характеризовали способность к клонированию единичных клеток из популяции хондроцитов хряща коленного сустава молодых бычков (1,5–2 года). Из слоев хряща разной глубины были выделены три типа клеток, различ-

ных по способности образовывать колонии – высокой клоногенности, средней клоногенности и не способных образовывать колонии. Активные СПК выделены из поверхностных (1/3) и глубоких (2/3) зон суставного хряща, хотя в поверхностном слое обнаружено значительно больше клеток-предшественников, чем в глубоких слоях. Клетки клонов экспрессировали маркеры стволовых клеток, такие как ABCG2 и TERT, ключевой хондрогенный транскрипционный фактор Sox-9 и фактор остеогенной транскрипции RunX-2. По мнению авторов, разница в количестве потенциальных клеток-предшественников в разных зонах хряща возникает из-за различных условий их существования в поверхностной и глубокой зонах суставного хряща, определяемых биомеханическими нагрузками. Клетки поверхностной зоны испытывают большое напряжение сдвига и быстро обновляются [29, 41], их метаболические усилия направлены на восстановления изношенной ткани [14, 20]. Клетки глубокой зоны испытывают высокие сжимающие нагрузки [18] и поэтому могут спокойно находиться в окружающем внеклеточном матриксе, для обновления которого требуется минимальная синтетическая активность. Прогениторные клетки обоих слоев имеют потенциал дифференцировки по бинарным линиям – хондрогенной и остеогенной. Клетки из глубокой зоны (2/3) обладали более сильной хондрогенной и остеогенной способностью, чем клетки поверхностной зоны (1/3).

В отличие от дифференцированных хондроцитов, которые теряют свой хондрогенный потенциал при размножении в монослойной культуре, СПК человека сохраняют хондрогенную дифференцировку после экстенсивного размножения, что проявляется в непрерывном синтезе транскрипционного фактора Sox-9 [3, 28, 38, 40]. Sox-9 является ключевым фактором регуляции хондрогенеза, экспрессия которого быстро снижается в процессе пролиферации дедифференцированных хондроцитов из глубоких слоев хряща [28, 40]. Тем не менее даже терминально дифференцированные хондроциты в условиях культивирования можно дифференцировать в прогениторные клетки, что успешно показали Jiang et al. [26]. Появление прогениторных клеток авторы определяли по их способности экспрессировать маркеры поверхности клеток зрелых хондроцитов (COL2) и маркера МСК – CD146. Такие клетки обладают повышенным хондрогенным потенциалом. Физические и биохимические условия культивирования дифференцированных хондроцитов взрослых людей позволяют преобразовать их фенотип в СПК и значительно определяют их биологическую активность [26]. Это наблюдение поддер-

живает альтернативный клеточный признак, что зрелые, дифференцированные клетки способны вернуться к стадии клеток-предшественников и способствовать регенерации тканей.

**Свойства тканеспецифических прогениторных клеток хряща.** СПК хряща были охарактеризованы в соответствии со свойствами взрослых стволовых клеток, такими как способность к самообновлению, потенциалу дифференцировки по многим линиям и наличию поверхностных маркеров, характерных для МСК костного мозга [25, 29, 38]. Способность к самообновлению клеток была проверена по активности образования колоний [28, 32] и генерации побочных популяций (как было установлено по включению красителя Hoechst методом проточной цитометрии) [16, 40]. Группа исследователей во главе с Archer [3] сообщили о наличии более длинных теломер и более высокой активности теломеразы в клонированных клетках по сравнению с хондроцитами, выделенными из всей глубины суставного хряща [3]. Такой признак расценивается как дополнительное доказательство в пользу способности этих клеток к самообновлению [40]. Мультилинейный потенциал клеток определили по их способности дифференцироваться *in vitro* по остеогенной, хондрогенной и адипогенной линиям.

По мнению Archer [3], колонии, которые *in vitro* образуют выделенные из суставного хряща хондроциты, можно классифицировать как мезенхимальные стволовые клетки (МСК), поскольку они соответствуют минимальным критериям для таких клеток: адсорбируются на пластике, экспрессируют маркеры клеточной поверхности CD105, CD73 и CD90, не экспрессируют маркеры гемопоэтических клеток, такие как CD34 и CD45, и могут дифференцироваться в остеобласты, адипоциты или хондроциты [13, 14, 31, 40]. Прогениторные клетки, выделенные из суставного хряща, функционально эквивалентны МСК костного мозга, но обладают ограниченным потенциалом дифференцировки и не способны или ограничены в способности подвергаться гипертрофии и минерализации [3, 31]. Надо подчеркнуть, что с точки зрения восстановления и регенерации клетки-предшественники, полученные из суставного хряща, при культивировании в хондрогенной среде не подвержены терминальной дифференцировке, т.е. могут сохранить свой фенотипический статус длительное время [31].

**Маркеры стволовых/прогениторных клеток-предшественников.** Для выявления фенотипа и функций различных субпопуляций стволовых клеток требуется четко определенная комбинация клеточных поверхностных антигенов [14, 16, 30, 37]. Для стволовых клеток или клеток-

предшественников в хрящевой ткани окончательный биомаркер отсутствует, но существует ряд подсказок относительно их характеристик.

Notch-1 играет значительную роль в механизмах сигналов, контролируемых клонирование хондроцитов поверхностных зон. Приблизительно 75 % клеток поверхностной зоны экспрессируют данный белок, и только для 1–2 % этих отобранных из колонии клеток сам по себе Notch-1 не является специфическим маркером хондроцитов-предшественников. Точная роль Notch в образовании колоний или сохранении статуса предшественника остается неясной: сигнал Notch-1 может поддерживать пролиферацию клеток, то есть клонирование, или он способствует дифференцировке хондроцитов и, следовательно, росту хряща [4].

Комбинации молекул клеточной поверхности часто используются для идентификации клеток-предшественников методами иммуногистохимии [9]. В этот список входят Stro-1 [12, 36, 38], CD105/эндоглин (рецептор III трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ )) [12], CD73 (экто-5'-нуклеотидаза) [7], CD166/активированная молекула адгезии лейкоцитарных клеток (ALCAM) [7] и Thy-1/CD-90 (гликопротеин с гликозилфосфатидилинозитолом) [34]. Рецептор гиалуронана (CD44), молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 (VCAM-1)/CD106 и молекула межклеточной адгезии 2 (ICAM-2)/CD102 также являются маркерами МСК [14, 17, 23–25]. Рецептор Notch-1 имеет значение для сохранения пулов МСК и также считается маркером этих клеток [4, 6]. Grogan et al. [16] в нормальном хряще взрослых людей обнаружили большое количество клеток, экспрессирующих маркеры Notch-1, Stro-1 и VCAM, характерные для МСК. Однако Karrlsson et al. [27] показали, что Notch-1 не является маркером клеток-предшественников хряща. Как предположили авторы, наблюдаемая высокая частота выявления прогениторных клеток в хряще лишь отражает множество функций, которые они выполняют в нативной ткани, такие как контролирование дифференцировки, пролиферации и апоптоза [4, 16]. С другой стороны, хрящ может содержать очень высокую долю клеток-предшественников в силу отсутствия сосудов в ткани. Частота Notch-1-позитивных клеток в разных тканях человека колеблется от 0 до 60 % и более [16]. После прекращения роста и достижения зрелости пул стволовых клеток в поверхностной зоне хряща может быть источником для пополнения клеток на поверхности ткани, которая является местом биомеханической нагрузки и подвержена усиленному износу. Такая клеточная организация присутствует и сохраняется в хряще независимо от возраста.

Для сортировки популяций клеток из хряща человека с характеристиками предшественников использовали положительную иммунную реакцию для CD9 (антиген дифференцировки клеток), CD44 (рецептор гиалуроновой кислоты), CD54 (ICAM-1), CD90 (Thy-1) и CD166 в различных комбинациях триплетов [15, 30]. Перечисленные биомаркеры прогениторных клеток для хряща не вполне надежны, как подчеркивают все исследователи: экспрессия этих рецепторов сама по себе не указывает конкретно на клетку-предшественник, поскольку они также присутствуют на других, нестволовых, клетках в хрящевой ткани [14, 21]. Следовательно, в настоящее время, несмотря на вполне установленный факт наличия ниши СПК в суставном хряще, до сих пор нет окончательно признанного биомаркера этих клеток.

Группа исследователей [22] определяли присутствие клеток-предшественников в хряще по продуктам их синтетической активности во внеклеточном и околоклеточном матриксе, используя моноклональные тела к различным сайтам сульфатирования (эпитопам мотивов сульфатирования) хондроитинсульфата – боковых цепей протеогликанов, одного из основных компонентов матрикса хряща – для идентификации метаболически различных субпопуляций клеток в поверхностной зоне ткани. Они показали, что хондроциты из разных зон суставного хряща на разной стадии дифференцировки синтезируют протеогликаны с боковыми цепями хондроитинсульфата, различающиеся по количеству и местам присоединения сульфатных групп к остаткам уроновых кислот и N-ацетил-β-D-глюкозамина. Используемые моноклональные антитела различали особенности сульфатирования дисахаридных единиц в углеводной цепи гликозаминогликана хондроитинсульфата. Анализ колокализации флюорохрома позволил предположить, что мотивы сульфатирования хондроитинсульфата связаны с рядом протеогликанов (перлекан и агрекан) около- и внеклеточного матрикса в нише стволовых клеток. Уникальные распределения этих мотивов сульфатирования в микросреде хондроцитов поверхностной зоны, по мнению авторов, обозначают ранние стадии дифференцировки стволовых клеток-предшественников и согласуются с тем, что эти молекулы играют функциональную роль в регуляции хондрогенеза.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В природной популяции СПК суставного хряща не обнаружено явных признаков эндохондрального перерождения во время дифференцировки в хондроциты, что допускает уникальную

возможность применения этих клеток в целях восстановления хряща. Кроме того, поскольку прогениторные клетки проявляют высокий репликативный потенциал, то можно прогнозировать возможность разработки методов восстановления в гораздо более обширные повреждения, чем в настоящее время, используя стандартную технику с использованием аутологичных хондроцитов. Кроме того, расширение наших знаний о роли и регуляции метаболических процессов в стволовых клетках суставного хряща в ходе роста и развития организма, а также при развитии дегенеративных заболеваний может способствовать более активному использованию клеток для стимуляции и контролирования естественных восстановительных реакций.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Alsalameh S., Amin R., Gemba T., Lotz M.* Identification of mesenchymal progenitor cells in normal and osteoarthritic human articular cartilage // *Arthritis Rheum.* 2004. 50. (5). 1522–1532
2. *Archer C.W., Morrison H., Pitsillides A.* The development of diarthrodial joints and articular cartilage // *J. Anat.* 1994. 184. 447–456.
3. *Archer C.W., Williams R., Nelson L., Khan I.M.* Articular cartilage-derived stem cells: identification, characterisation and their role in spontaneous repair // *Rheumatol. Curr. Res.* 2012. S3:005.
4. *Artavanis-Tsakonas S., Rand M.D., Lake R.J.* Notch signaling: cell fate control and signal integration in development // *Science.* 1999. 284. 770–776.
5. *Baksh D., Song L., Tuan R.S.* Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy // *J. Cell. Mol. Med.* 2004. 8. 301–316.
6. *Baron M.* An overview of the Notch signalling pathway // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2003. 14. 113–119.
7. *Barry F., Boynton R., Murphy M., Zaia J.* The SH-3 and SH-4 antibodies recognize distinct epitopes on CD73 from human mesenchymal stem cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 289: 519–524.
8. *Buckwalter J.A., Brown T.D.* Joint injury, repair, and remodeling: roles in post-traumatic osteoarthritis // *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2004. 423. 7–16.
9. *Campagnoli C., Roberts I.A., Kumar S., Bennett P.R., Bellantuono I., Fisk N.M.* Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow // *Blood.* 2001. 98. (8). 2396–2402.
10. *Chang H.X., Yang L., Li Z., Chen G., Dai G.* Age-related biological characterization of mesenchymal progenitor cells in human articular cartilage // *Orthopedics.* 2011. 34. (8). e382–e388.
11. *De Bari C., Dell'Accio F., Tylzanowski P., Luyten F.P.* Multipotent mesenchymal stem cells from

adult human synovial membrane // *Arthritis Rheum.* 2001. 44. 1928–1942.

12. Dennis J.E., Carbillet J.P., Caplan A.I., Charbord P. The STRO-1+ marrow cell population is multipotential // *Cells Tissues Organs.* 2002. 170. (2–3). 73–82.

13. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy.* 2006. 8. 315–317.

14. Douthwaite G.P., Bishop J.C., Redman S.N., Khan I.M., Rooney P., Evans D.J., Haughton L., Bayram Z., Boyer S., Thomson B., Wolfe M.S., Archer C.W. The surface of articular cartilage contains a progenitor cell population // *J. Cell Sci.* 2004. 117. 889–97.

15. Fickert S., Fiedler J., Brenner R.E. Identification of subpopulations with characteristics of mesenchymal progenitor cells from human osteoarthritic cartilage using triple staining for cell surface markers // *Arthritis Res. Ther.* 2004. 6. R422–R432.

16. Grogan S.P., Miyaki S., Asahara H., D’Lima D.D., Lotz M.K. Mesenchymal progenitor cell markers in human articular cartilage: normal distribution and changes in osteoarthritis // *Arthritis Res. Ther.* 2009. 11. R85.

17. Gronthos S., Zannettino A.C., Hay S.J., Shi S., Graves S.E., Kortessidis A., Simmons P.J. Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow // *J. Cell Sci.* 2003. 116. 1827–1835.

18. Guilak F., Ratcliffe A., Mow V.C. Chondrocyte deformation and local tissue strain in articular cartilage: a confocal microscopy study // *J. Orthop. Res.* 1995. 13. 410e21.

19. Hattori S., Oxford C., Reddi A.H. Identification of superficial zone articular chondrocyte stem/progenitor cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. 358. 99–103.

20. Hayes A.J., MacPherson S., Morrison H., Douthwaite G., Archer C.W. The development of articular cartilage: evidence for an appositional growth mechanism // *Anat. Embryol.* 2001. 203. 469–479.

21. Hayes A.J., Douthwaite G.P., Webster S.V., Archer C.W. The distribution of Notch receptors and their ligands during articular cartilage development // *J. Anat.* 2003. 202. 495–502.

22. Hayes A.J., Udor D., Nowell M.A., Caterson B., Hughes C.E. Chondroitin sulfate sulfation motifs as putative biomarkers for isolation of articular cartilage progenitor cells // *J. Histochem. Cytochem.* 2008. 56. 125–138.

23. Hiraoka K., Grogan S., Olee T., Lotz M. Mesenchymal progenitor cells in adult human articular cartilage // *Biorheology.* 2006. 43. 447–454.

24. Hunziker E.B. The elusive path to cartilage regeneration // *Adv. Mater.* 2009. 21. (32–33). 3419–3424.

25. Jiang Y., Tuan R.S. Origin and function of cartilage stem/progenitor cells in osteoarthritis // *Nat. Rev. Rheumatol.* 2015. 11. (4). 206–212.

26. Jiang Y., Cai Y., Zhang W., Yin Z., Hu C., Tong T., Lu P., Zhang S., Neculai D., Tuan R.S., Ouyang H.W. Human cartilage-derived progenitor cells from committed chondrocytes for efficient cartilage repair and regeneration // *Stem Cells Transl. Med.* 2016. 5. (6). 733–744

27. Karlsson C., Lindahl A. Articular cartilage stem cell signaling // *Arthritis Res. Ther.* 2009. 11. 121.

28. Koelling S., Kruegel J., Irmer M., Path J.R., Sadowski B., Miro X., Miosge N. Migratory chondrogenic progenitor cells from repair tissue during the later stages of human osteoarthritis // *Cell Stem Cell.* 2009. 4. 324–335.

29. Li L., Newton P.T., Boudierlique T., Sejnohova M., Zikmund T., Kozhemyakina E., Xie M., Krivanek J., Kaiser J., Qian H., Dyachuk V., Lassar A.B., Warman M.L., Barenus B., Adameyko I., Chagin A.S. Superficial cells are self-renewing chondrocyte progenitors, which form the articular cartilage in juvenile mice // *FASEB J.* 2017. 31. (3). 1067–1084.

30. Mazar M., Cesaro A., Ali M., Best T.M., Lespessaille E., Toumi H. Progenitor cells from cartilage: Grade specific differences in stem cell marker expression // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. 18. (8). 1759–1766.

31. McCarthy H.E., Bara J.J., Brakspear K., Singhrao S.K., Archer C.W. The comparison of equine articular cartilage progenitor cells and bone marrow-derived stromal cells as potential cell sources for cartilage repair in the horse // *Vet. J.* 2012. 192. 345–351.

32. Quintin A., Schizas C., Scaletta C., Jaccoud S., Applegate L.A., Pioletti D.P. Plasticity of fetal cartilaginous cells // *Cell Transplant.* 2010. 19. 1349–1357.

33. Rodriguez-Fontan F., Piuze N.S., Chahla J., Payne K.A., LaPrade R.F., Muschler G.F., Pascual-Garrido C. Stem and progenitor cells for cartilage repair: Source, safety, evidence, and efficacy // *Oper. Tech. Sports Med.* 2017. 25. (1). 25–33.

34. Saalbach A., Haustein U.F., Anderegg U. A ligand of human thy-1 is localized on polymorphonuclear leukocytes and monocytes and mediates the binding to activated thy-1-positive microvascular endothelial cells and fibroblasts // *J. Invest. Dermatol.* 2000. 115. 882–888.

35. Seol D., McCabe D.J., Choe H., Zheng H., Yu Y., Jang K., Walter M.W., Lehman A.D., Ding L., Buckwalter J.A., Martin J.A. Chondrogenic progenitor cells respond to cartilage injury // *Arthritis Rheum.* 2012. 64. 3626–3637.

36. Simmons P.J., Torok-Storb B. Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a

- novel monoclonal antibody, STRO-1 // *Blood*. 1991. 78. 55–62.
37. Spangrude G.J., Heimfeld S., Weissman I.L. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells // *Science*. 1988. 241. 58–62.
38. Wang M., Yuan Z., Ma N., Hao C., Guo W., Zou G., Zhang Y., Chen M., Gao S., Peng J., Wang A., Wang Y., Sui X., Xu W., Lu S., Liu S., Guo Q. Advances and prospects in stem cells for cartilage regeneration // *Stem Cells Int*. 2017. 2017. ID 4130607.
39. Ward A.C., Dowthwaite G.P., Pitsillides A.A. Hyaluronan in joint cavitation // *Biochem. Soc. Trans*. 1999. 27. 128–135.
40. Williams R., Khan I.M., Richardson K., Nelson L., McCarthy H.E., Analbelsi T., Singhrao S.K., Dowthwaite G.P., Jones R.E., Baird D.M., Lewis H., Roberts S., Shaw H.M., Dudhia J., Fairclough J., Briggs T., Archer C.W. Identification and clonal characterisation of a progenitor cell sub-population in normal human articular cartilage // *PLoS One*. 2010. 5. e13246.
41. Wong B.L., Bae W.C., Gratz K.R., Sah R.L. Shear deformation kinematics during cartilage articulation: effect of lubrication, degeneration, and stress relaxation // *Mol. Cell. Biomech*. 2008. 5. 197–206.
42. Yu Y., Zheng H., Buckwalter J.A., Martin J.A. Single cell sorting identifies progenitor cell population from full thickness bovine articular cartilage // *Osteoarthritis Cartilage*. 2014. 22. 1318–1326.

## PROGENITOR CELLS OF ARTICULAR CARTILAGE

**Tat'yana Vasil'evna RUSOVA, Anastasiya Aleksandrovna VOROPAEVA,  
Ol'ga Viktorovna FALAMEEVA**

*Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan  
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

---

Articular cartilage contains a population of stem/progenitor cells (progenitor cells) that support tissue homeostasis like many adult human and animal tissues. These cells can respond to injuries and promote the healing of articular cartilage. Investigation of the origin and functions of these cells contributes to the development of cellular treatment methods aimed at eliminating focal defects in healthy cartilage, delaying the onset of degenerative diseases and reducing the need for joint replacement operations. This article provides information on the progenitor cells in the articular cartilage according to the materials of foreign literature.

---

**Key words:** articular cartilage, progenitor cells.

*Rusova T.V. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory-experimental department,  
e-mail: TRusova@niito.ru*

*Voropaeva A.A. – candidate of biological sciences, researcher of the laboratory-experimental Department,  
e-mail: AVoropaeva@niito.ru*

*Falameeva O.V. – doctor of medical sciences, chief researcher of laboratory-experimental department,  
e-mail: niito@niito.ru*

## КАЛЬЦИФИКАЦИЯ ЭЛАСТИН-СОДЕРЖАЩИХ КСЕНОГЕННЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ: ВЛИЯНИЕ КОНСЕРВАНТОВ И БИСФОСФОНАТОВ

Прина Юрьевна ЖУРАВЛЕВА<sup>1</sup>, Мария Борисовна ВАСИЛЬЕВА<sup>1</sup>,  
Татьяна Павловна ТИМЧЕНКО<sup>1</sup>, Елена Викторовна КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup>,  
Юлия Федоровна ПОЛИЕНКО<sup>2,3</sup>, Наталия Романовна НИЧАЙ<sup>1</sup>,  
Игорь Алексеевич ГРИГОРЬЕВ<sup>1,2</sup>, Александр Владимирович БОГАЧЕВ-ПРОКОФЬЕВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр им. академика Е.Н. Мешалкина  
Минздрава России

630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

<sup>2</sup> Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН

630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 9

<sup>3</sup> Новосибирский государственный университет

630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Цель исследования – гистологическая оценка ранних стадий процесса кальцификации стенок свиной аорты и бычьей яремной вены, консервированных глутаровым альдегидом и диглицидиловым эфиром этиленгликоля и модифицированных аминокислотами бисфосфоновыми соединениями, в экспериментальной модели подкожной имплантации крысам. **Материал и методы.** Подкожная имплантация образцов биоматериала крысам на 10, 20 и 30 суток с последующим изучением кальциевых депозитов методом световой микроскопии при окраске по фон Косса. **Результаты.** Основными субстратами кальцификации ксеноаортальной и ксеновенозной стенок являются эластин и гладкомышечные клетки. Накопление кальция в аорте не зависит от базовой консервации. Обработка диэпоксидом тормозит кальцификацию ксеновены до 30 суток эксперимента. Антикальциевый эффект иммобилизованных бисфосфонатов (памидроновой и 2-(2'-карбокситил-амино)этилиден-1,1-бисфосфоновой кислот) варьирует в зависимости от микроструктуры биоматериалов, способа базовой консервации и химической структуры бисфосфоната.

**Ключевые слова:** кардиоваскулярные ксенопротезы, глутаральдегид, диэпоксид, антикальциевая обработка, бисфосфонаты, эластин-содержащие ткани.

В составе биопротезов для реконструктивных операций на сердце используют различные материалы: корень свиной аорты, свиной и бычий перикард, клапан-содержащую бычью яремную вену [5]. Все они различны по своей видовой и тканевой принадлежности и, соответственно, – по микроструктуре, составу и соотношению бел-

ков, клеточных компонентов и т.д. Традиционно все ксеногенные материалы для кардиохирургии в процессе изготовления протеза подвергаются поперечной сшивке глутаровым альдегидом (ГА). Хорошо известно, однако, что ГА-обработанные ксеноматериалы после имплантации в организм легко подвергаются кальцификации с выражен-

*Журавлева И.Ю.* – д.м.н., проф., зав. лабораторией биопротезирования Центра новых технологий, e-mail: i\_zhuravleva@meshalkin.ru

*Васильева М.Б.* – к.м.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии Центра новых технологий, e-mail: m\_vasilyeva@meshalkin.ru

*Тимченко Т.П.* – младший научный сотрудник лаборатории биопротезирования Центра новых технологий, e-mail: t\_timchenko@meshalkin.ru

*Кузнецова Е.В.* – стажер исследователь лаборатории биопротезирования Центра новых технологий, e-mail: ev\_kuznetsova@meshalkin.ru

*Полиенко Ю.Ф.* – к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории азотистых соединений, старший научный сотрудник лаборатории химии свободных радикалов, e-mail: polienko@nioch.nsc.ru

*Ничай Н.Р.* – к.м.н., врач-сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения врожденных пороков сердца, e-mail: n\_nichay@meshalkin.ru

*Григорьев И.А.* – д.х.н., проф., зав. лабораторией азотистых соединений; старший научный сотрудник Центра анестезиологии и реаниматологии, e-mail: grig@nioch.nsc.ru

*Богачев-Прокофьев А.В.* – д.м.н., руководитель Центра новых технологий, e-mail: a\_bogachev@meshalkin.ru



ной возрастной закономерностью: чем моложе пациент, тем быстрее и интенсивнее происходит кальциевая дисфункция биопротеза. С целью подавления кальцификации ГА-биопротезов были предложены различные стратегии: обработка спиртами для редукции резидуальных альдегидных групп, сорбция катионов трехвалентных металлов, иммобилизация бисфосфонатов [8, 17]. Наиболее радикальным подходом была замена альдегидного сшивающего агента на эпоксидные соединения, предложенная С. Nojiri et al. в 1987 г. [18]. Следует отметить, что последнее направление не получило клинического внедрения нигде в мире, кроме России. С 1995 г. практически все отечественные клиники получили возможность использовать кардиоваскулярные биопротезы, консервированные диглицидиловым эфиром этиленгликоля (ДЭ) [2].

За последние 20 лет клиникой Национального медицинского исследовательского центра им. Е.Н. Мешалкина накоплен большой опыт работы с биопротезами различных моделей, консервированными как ГА, так и ДЭ. Этот опыт показывает, что стратегия замены ГА на ДЭ приводит к снижению риска кальцификации биоматериалов, состоящих преимущественно из коллагена – бычьего перикарда и створок аортального клапана свиньи. Однако элементы протезов, содержащие стенку свиной аорты, накапливают кальций одинаково интенсивно как при ГА-, так и при ДЭ-обработке [1, 12, 13]. Кальциевые дисфункции характерны и для стенки ксеновенозного кондуита Contegra, хотя и не являются основной проблемой при использовании этого биопротеза [19].

Процесс кальцификации свиной аортальной стенки и бычьего перикарда хорошо изучен как клинически, так и в эксперименте на мелких и крупных животных [19], тогда как в отношении стенки бычьей яремной вены такие сведения крайне скудны. Оба эти биоматериала содержат большое количество эластина, который, как известно, в незначительной степени реагирует как с альдегидными, так и с эпоксидными консервантами. Кальцификация этого белка зависит не от структуры связей, образованных при поперечной сшивке, а от наличия большого количества сайтов связывания кальция в нативном эластине. Поэтому чем выше концентрация эластина в биоматериале, тем интенсивнее он кальцинируется [9, 21]. В то же время в стенке аорты помимо эластина содержится большое количество гладкомышечных клеток и очень немного коллагена, тогда как в стенке вены коллаген является преобладающим компонентом [3]. В связи с этим можно предполагать, что эффективность различных стратегий, направленных на подавление кальци-

фикации биоматериалов, будет различна для аортальной и венозной стенок.

В настоящей работе исследовали 30-дневную динамику кальцификации данных эластин-содержащих биоматериалов при использовании альдегидного и эпоксидного сшивающих агентов и последующей иммобилизации бисфосфонатов.

Целью работы явилась гистологическая оценка ранних стадий процесса кальцификации стенок свиной аорты и бычьей яремной вены, консервированных глутаровым альдегидом и диглицидиловым эфиром этиленгликоля и модифицированных аминокислотами бисфосфонатыми соединениями, в экспериментальной модели подкожной имплантации крысам.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

**Консервация биоматериалов.** Стенку свиного корня аорты (зона синусов и синотубулярного сочленения) и стенку бычьей яремной вены получали из местных убойных цехов. Биоматериал забирали непосредственно после убоя животных, промывали несколько раз 0,9%-м раствором хлорида натрия и тщательно очищали от окружающей соединительной ткани. Консервацию материалов выполняли не позднее чем через 6 ч после убоя. Использовали два метода поперечной сшивки: 1) 0,625%-м раствором глутарового альдегида (0,1М фосфатный буфер, рН 7,4, при комнатной температуре в течение 21 сут) с двукратной сменной раствора – на 2-е и 7-е сут; 2) 5%-м раствором диглицидилового эфира этиленгликоля (0,1М фосфатный буфер, рН 7,4, при комнатной температуре в течение 14 сут) со сменой раствора на 2-е сут. После окончания срока консервации материал подвергали модификации бисфосфонатыми соединениями либо немодифицированные (контрольные) образцы помещали для хранения в сложный спиртовой раствор [4].

**Модификация бисфосфонатами.** Для иммобилизации на ГА- и ДЭ-обработанные образцы ксеноаорты и ксеновены использовали бисфосфонатные кислоты: памидроновую и 2-(2'-карбоксивэтиламино)этилиден-1,1-бисфосфонатную (КЭАБФК), синтезированные в Институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН (г. Новосибирск). Памидроновая кислота, содержащая в структуре первичный амин, была синтезирована по известной методике [14]; КЭАБФК, содержащая вторичный амин, впервые была синтезирована в 1992 г. [6], но ее биологические эффекты практически не изучены. Иммобилизация бисфосфонатов на биоматериале происходит за счет реакции первичных и вторичных аминов с остаточными альдегидными или эпоксидными

группами, не связавшимися с белками биоматериалов в процессе поперечной сшивки.

Модификацию биоматериала выполняли следующим образом: по окончании срока консервации образцы промывали в течение 60 мин стерильным 0,9%-м раствором NaCl с трехкратной сменой промывочного раствора через каждые 20 мин, после чего погружали в 1,2%-й водно-буферный раствор соответствующего бисфосфоната (0,1М фосфатный буфер, pH 7,4) на 12 ч при 37 °С. По окончании экспозиции в растворе бисфосфоната образцы, предназначенные для имплантации крысам, промывали стерильным 0,9%-м раствором NaCl в течение 20 мин и помещали для хранения в сложный спиртовой раствор [4].

**Определение содержания иммобилизованных бисфосфонатов.** Данное исследование основано на разности концентрации неорганического фосфора в модифицированных бисфосфонатами образцах и образцах, консервированных ГА и ДЭ, но не модифицированных (контрольных). Контрольные образцы отмывали от спиртового раствора в течение 20 мин и высушивали. Модифицированные бисфосфонатами образцы непосредственно по окончании модификации промывали стерильным 0,9%-м раствором NaCl в течение 4 ч при 37 °С с 3-кратной сменой промывочного раствора. Затем образцы высушивали до постоянной массы, каждый образец гидролизуют при 100 °С в смеси 5 мл 14М HNO<sub>3</sub> и 0,2 мл 17М HClO<sub>4</sub>, упаривали гидролизат до влажных солей и повторно растворяли в 5 мл 10%-й HNO<sub>3</sub>. Содержание фосфора определяли на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно связанной плазмой IRIS Advantage (TJA Solution, США). Содержание иммобилизованного бисфосфоната ([BP], мкМ/г сухой ткани) рассчитывали по формуле:  $[BP] = ([P]m - [P]n) / 62 \times 1000$ ; где [P]m и [P]n – содержание фосфора (мкг/мг) в модифицированном и немодифицированном материале соответственно.

**Подкожная имплантация крысам.** Экспериментальные протоколы выполнены в соответствии с этическими принципами, изложенными в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (1977) и одобрены Этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра им. академика Е.Н. Мешалкина МЗ РФ.

В эксперименте использовали 20 крыс-самцов линии Wistar с массой тела 80–90 г. Под севофлурановым ингаляционным наркозом каждому животному в стерильных условиях выполняли

6 разрезов в области спины (по 3 с каждой стороны от позвоночника); тупым способом формировали из каждого разреза подкожный карман, в который помещали образец биоматериала. Каждый разрез ушивали одним швом. Через 10, 20 и 30 сут животных этаназировали сверхдозой ингаляционного анестетика, образцы удаляли из подкожных карманов и фиксировали в 10%-м нейтральном формалине.

**Морфологические исследования.** Фиксированные в формалине образцы дегидратировали в спиртах и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 6 мкм. Для выявления депозитов фосфатов кальция использовали окрашивание по фон Косса. Окрашивание проводили по стандартной методике набором 04-170801 Von Kossa method for calcium (Bio-Optica, Италия). По окончании основной окраски срезы докрашивали 1%-м водным раствором эозина в течение 2 мин, дегитратировали, просветляли и заключали под покровное стекло по стандартной методике. Исследование выполняли с использованием светового микроскопа Olympus CX31 (Olympus Corp., Япония) при увеличениях  $\times 40$ ,  $\times 100$  и  $\times 400$ . При гистологическом анализе препаратов оценивали состояние фибриллярных структур (коллагена и эластина), клеточных элементов (гладкомышечные клетки), количество и структуру отложений фосфатов кальция, их расположение по отношению к слоям аортальной и венозной стенок и тканевым элементам.

**Статистическая обработка результатов.** При выполнении статистического анализа результатов определения иммобилизованных бисфосфонатов использовали значения медиан и межквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля) в каждой серии; достоверность различий между группами определяли с использованием теста Краскела – Уоллиса. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты количественного определения иммобилизованных бисфосфонатов убедительно показали, что оба исследованных соединения фиксируются на биоматериале в диапазоне 10–20 мкМ/г сухой ткани (таблица). Следует подчеркнуть, что для венозной стенки способ базовой консервации и химическая структура бисфосфоната не оказывают влияния на эффективность модификации ( $p = 0,473$ ), тогда как для стенки аорты содержание иммобилизованного препарата зависит от этих факторов ( $p < 0,00001$ ). Так, в ГА-консервированной аортальной стенке содержание памидроната в два раза больше

Таблица

Количество иммобилизованных бисфосфонатов (мкМ/г сухой ткани) в стенках свиной аорты и бычьей яремной вены, консервированных ГА и ДЭ

Способ консервации	Аорта	Вена
ГА + КЭАБФК	10,89 (10,65; 11,45)	21,21 (17,26; 25,16)
ГА + памидронат	20,80 (20,61; 21,45)**	18,23 (16,94; 19,69)
ДЭ + КЭАБФК	14,68 (13,55; 15,81)#	17,74 (16,13; 20,97)
ДЭ + памидронат	19,11 (15,0; 20,32)*	17,90 (15,64; 19,68)

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей способа консервации «ГА + КЭАБФК» (\* – при  $p < 0,005$ , \*\* – при  $p < 0,00001$ ) и «ГА + памидронат» (# – при  $p < 0,05$ ).

( $p = 0,000009$ ), чем КЭАБФК. В целом при использовании памидроната удается достичь большей модификации аортальной стенки, чем при использовании КЭАБФК. Это может быть связано с тем, что альдегидные группы легче реагируют с первичными аминами, которые содержатся в структуре памидроновой кислоты, нежели с вторичными, которые содержит КЭАБФК. Однако такое объяснение неприменимо к венозной стенке, где степень модификации не зависит от химической структуры бисфосфоната.

Известно, что иммобилизованные на биоматериале бисфосфонаты способны блокировать образование и рост кристаллов фосфата кальция за счет выраженной гемадсорбции к гидроксипатиту. Однако не все бисфосфоновые соединения обладают равной способностью подавлять кальцификацию кардиоваскулярных имплантатов *in vivo* [21]. Полученные в настоящем исследова-

нии результаты демонстрируют вариабельность динамики процесса кальцификации, связанную как с микроструктурой ксеногенного материала, так и с химической структурой препаратов, использованных для поперечной сшивки и дополнительной модификации.

Так, в стенке свиной аорты уже к 10-м суткам имплантации обнаруживали выраженную кальцификацию – вне зависимости от способа базовой консервации (рис. 1, а, б). Однако в альдегид-обработанной ткани, наряду с крупными глыбчатыми кристаллами, наблюдали большое количество мелких пылевидных частиц фосфатов кальция; все они расположены преимущественно между волокнами эластина, в гладкомышечных клетках. В эпоксиоконсервированной аорте большинство кристаллов расположено вдоль эластиновых волокон и в перифибриллярном пространстве. Образцы, модифицированные бис-

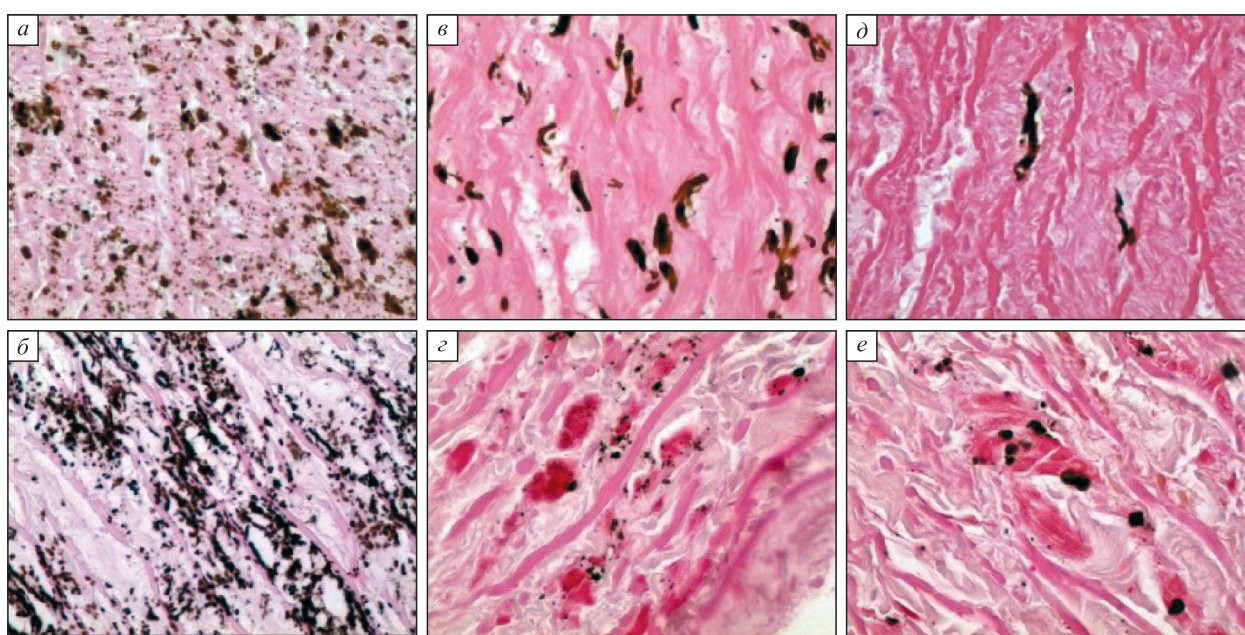
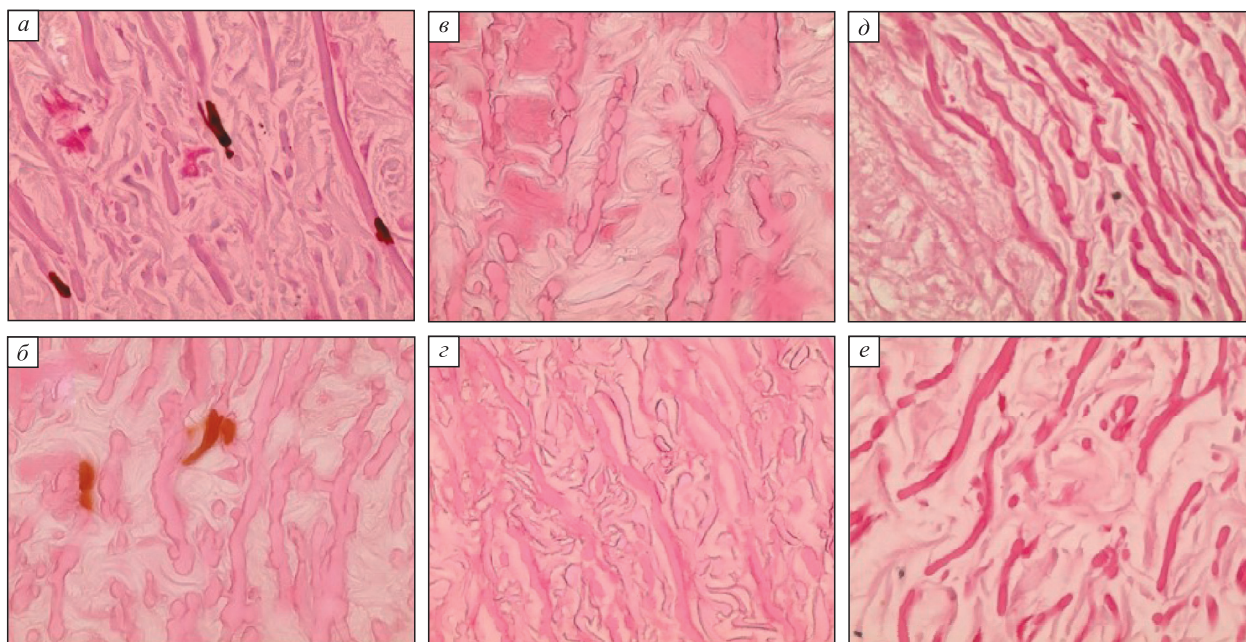


Рис. 1. Депозиты фосфатов кальция (коричневого цвета) в удаленных через 10 дней образцах свиной аорты, консервированных ГА (а, в, д) и ДЭ (б, г, е). в, г – модификация КЭАБФК; д, е – модификация памидроновой кислотой. Окраска по фон Косса, исходное увеличение  $\times 100$  (а, б) и  $\times 400$  (в–е)



**Рис. 2.** Депозиты фосфатов кальция (коричневого цвета) в удаленных через 10 дней образцах стенки ксеновены, консервированных ГА (а, в, д) и ДЭ (б, з, е). в, з – модификация КЭАБФК; д, е – модификация памидроновой кислотой. Окраска по фон Косса, исходное увеличение  $\times 400$

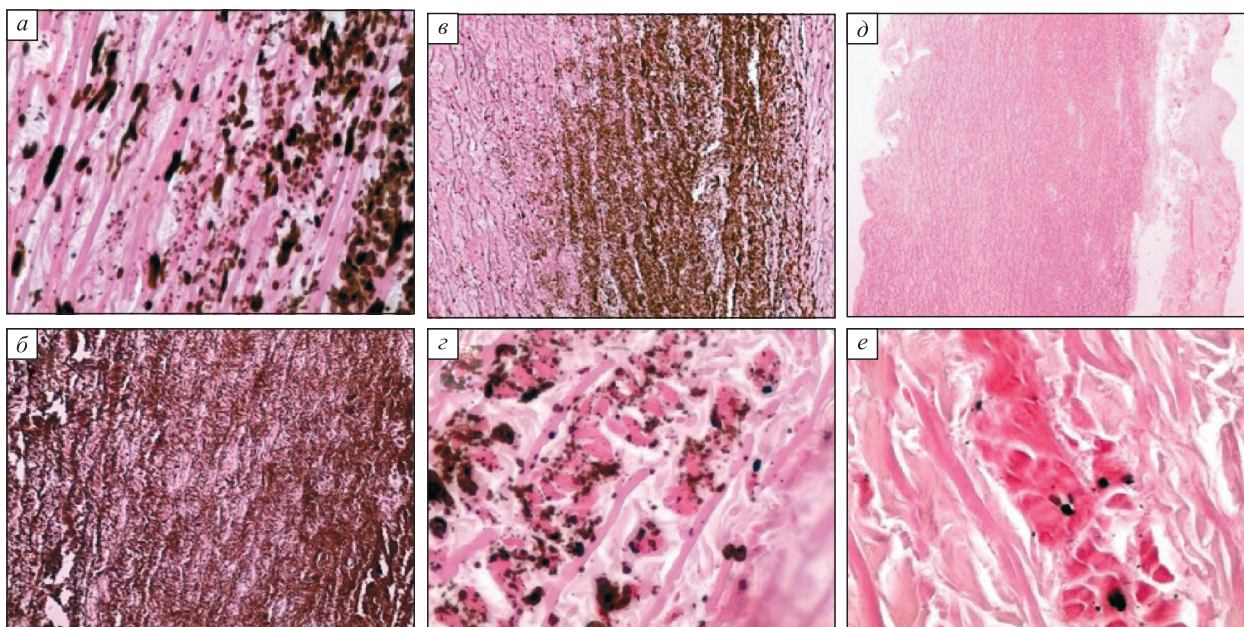
фосфонатами, кальцинированы в меньшей степени, причем более эффективно блокирует кальцификацию памидроновая кислота (рис. 1, д, е). Базовая консервация также играет роль: лишь в одном образце аорты, сшитой глутаровым альдегидом и модифицированной памидроновой кислотой, были обнаружены единичные кристаллы фосфата кальция, прочно связанные с волокнами эластина (рис. 1, д). При поперечной сшивке ДЭ бисфосфонаты на этом сроке «защищают» эластин, однако небольшое количество пылевидных частиц кальций-фосфата можно наблюдать в гладкомышечных клетках (рис. 1, з, е).

В те же сроки в стенке бычьей яремной вены, вне зависимости от метода базовой консервации, присутствуют лишь единичные вкрапления фосфатов кальция, и только в эластиновых волокнах (рис. 2, а, б). Модификация бисфосфонатами эффективно защищает на этом сроке данный вид биоматериала (рис. 2, в–е).

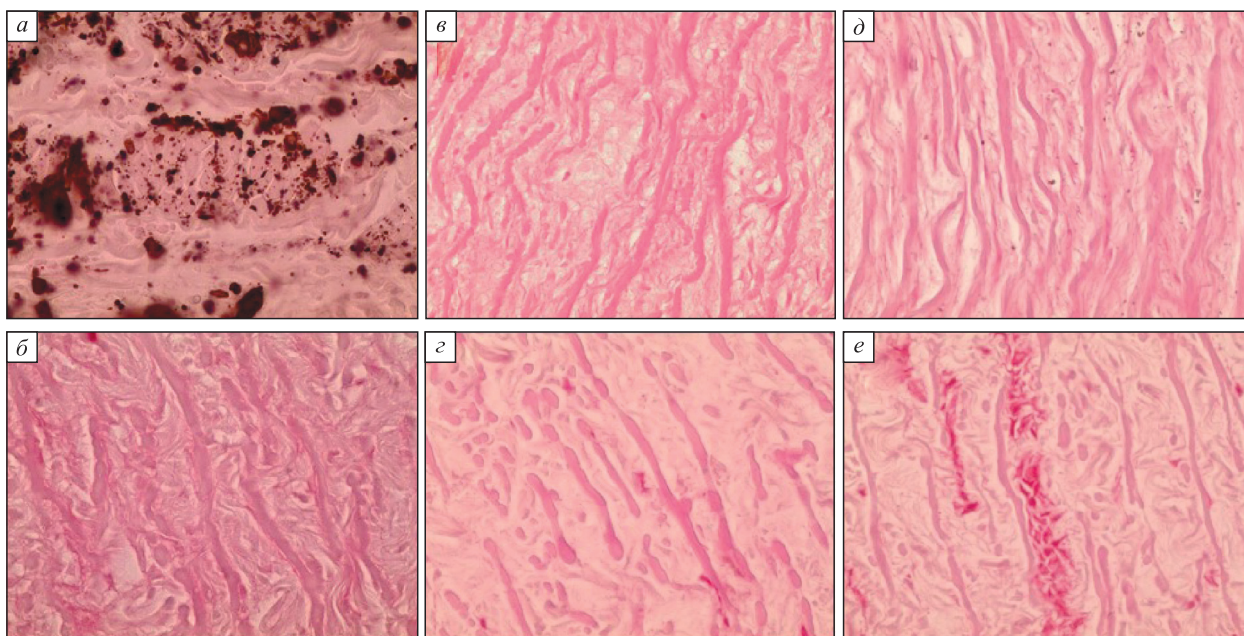
Через 20 дней в аортальных имплантатах, обработанных ГА и ДЭ, но не модифицированных бисфосфонатами, очевиден выраженный прогресс кальцификации, протекающий одинаково (рис. 3, а, б). На малых увеличениях отчетливо видно, что в толще tunica media пространство между эластиновыми волокнами заполнено мелкими глобулярными депозитами кальция, а некоторые эластиновые волокна тотально кальцинированы (см. рис. 3, б). На больших увеличениях можно наблюдать, что процесс распространяется

из срединного слоя к поверхностям, постепенно захватывая как эластиновые волокна, так и межфибриллярные структуры (см. рис. 3, а). В образцах, модифицированных КЭАБФК, к 20-м суткам появляются отдельные очаги кальциноза, расположенные в эластиновых волокнах и гладкомышечных клетках (рис. 3, в, з). Вкрапления кальция можно обнаружить в гладкомышечных клетках tunica media аортальной стенки, консервированной ДЭ и модифицированной памидронатом (рис. 3, е). Наиболее устойчив к кальцификации биоматериал, обработанный памидронатом после консервации ГА (рис. 3, д).

Венозная стенка демонстрирует иную картину. Кардинально отличаются от остальных серий ГА-образцы (рис. 4, а), которые содержат большое количество мелкодисперсного и крупноглобулярного кальция, расположенного во всех структурных компонентах – коллагене, эластине и гладкомышечных клетках. ДЭ-ксеновена, а также все группы биоматериала, модифицированного бисфосфонатами, не обнаруживают признаков кальцификации (рис. 4, б–е). Следует отметить, что к 20-м суткам пребывания в организме реципиента ксеновенозная стенка, обработанная по схеме «ГА + бисфосфонат», выглядит более структурно сохранной, чем образцы «ДЭ + бисфосфонат», где отчетливо видны признаки отека, разрыхления и разволокнения коллагена, частичного лизиса эластиновых волокон и гладкомышечных клеток (рис. 4, з, е).



**Рис. 3.** Депозиты фосфатов кальция (коричневого цвета) в удаленных через 20 дней образцах свиной аорты. Обозначения те же, что и на рис. 1. Исходное увеличение  $\times 40$  (д),  $\times 100$  (б, в) и  $\times 400$  (а, з, е)

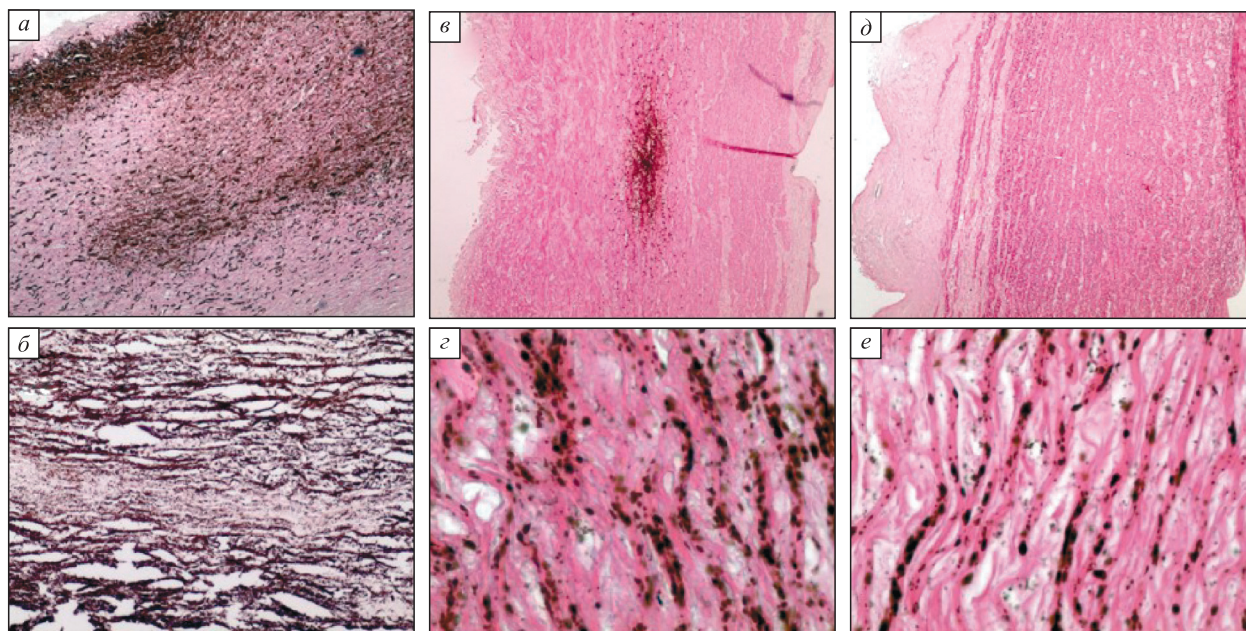


**Рис. 4.** Депозиты фосфатов кальция (коричневого цвета) в удаленных через 20 дней образцах стенки ксено-вены. Обозначения те же, что и на рис. 2. Исходное увеличение  $\times 400$

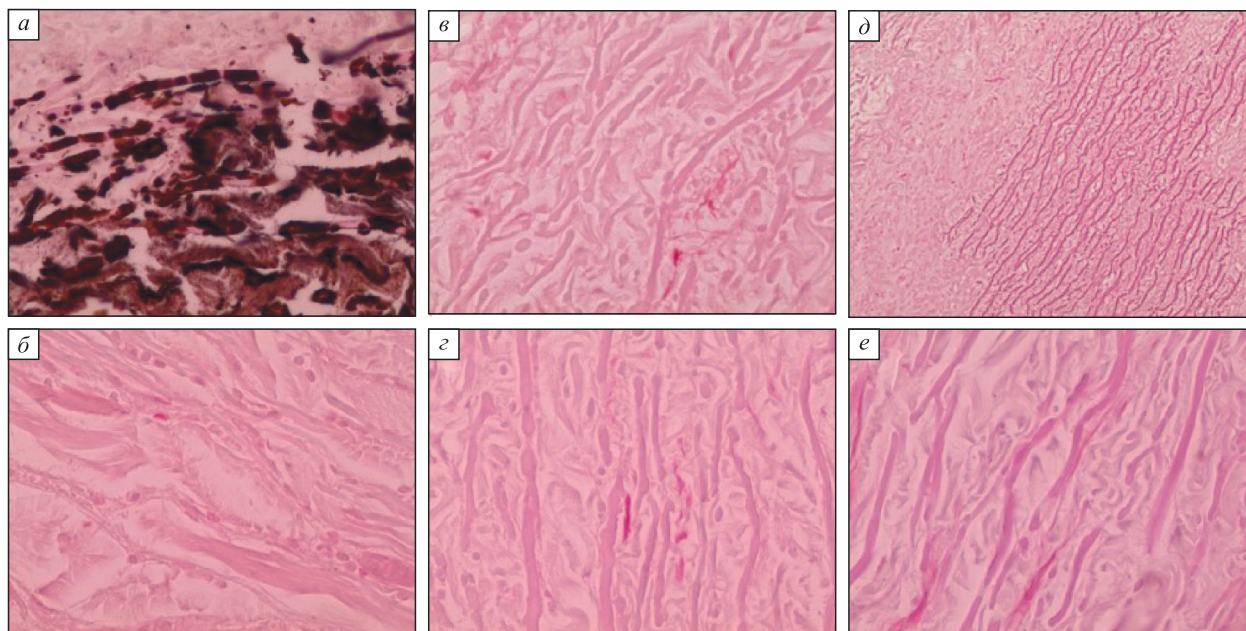
К 30-м суткам можно говорить о тотальном кальцинозе аортальной стенки, сшитой как ГА, так и ДЭ (рис. 5, а, б). Начальные отложения кальция прослеживаются также в образцах, обработанных по схеме «ДЭ + бисфосфонат» (вне зависимости от типа бисфосфоната) (рис. 5, з, е): здесь депозиты наиболее отчетливо прослеживаются в эластиновых волокнах, в перифибриллярном пространстве видны мелкие пылевидные частицы фосфатов кальция. Наиболее сохран-

ным выглядит биоматериал, консервированный ГА с дополнительной модификацией памидроновой кислотой, где кальциноз не обнаружено (рис. 5, д). Модификация ГА-образцов с использованием КЭАБФК не столь эффективна – к этому сроку отчетливо визуализируется рост «ядра» кальцификации в толще tunica media (рис. 5, в).

В стенке ГА-консервированной вены происходит нарастание массы кристаллов фосфата кальция. Некоторые эластиновые волокна тоталь-



**Рис. 5.** Депозиты фосфатов кальция (коричневого цвета) в удаленных через 30 дней образцах свиной аорты. Обозначения те же, что и на рис. 1. Исходное увеличение  $\times 40$  (в, д),  $\times 100$  (а, б) и  $\times 400$  (з, е)



**Рис. 6.** Депозиты фосфатов кальция (коричневого цвета) в удаленных через 30 дней образцах стенки ксено-вены. Обозначения те же, что и на рис. 2. Исходное увеличение  $\times 400$

но кальцинированы, отчетливо видна кальцификация коллагена (рис. 6, а). Образцы, консервированные ДЭ, а также все группы с дополнительной модификацией бисфосфонатами не обнаруживают кальциевых отложений (рис. 6, б–е). Необходимо отметить продолжающуюся структурную деградацию ткани: истончение эластиновых волокон, разволокнение и лизис коллагена; лишь в отдельных образцах сохраняются остатки глад-

комышечных клеток (рис. 6, в, з), отмечается массивная инфильтрация клетками реципиента (рис. 6, б).

На основании полученных результатов можно утверждать, что эластин является основным субстратом кальцификации ксеноаортальной и ксеновенозной стенок, так как именно в эластине обнаруживаются первые отложения фосфатов кальция. Прогрессирование процесса происходит

также за счет гладкомышечных клеток, известных как сильные нуклеаторы кальция [11, 15, 20]. Интенсивность кальцификации аортальной стенки не зависит от выбора агента для поперечной сшивки – процесс протекает одинаково агрессивно при консервации как ГА, так и ДЭ. В отличие от аорты стенка ксеновены, консервированная ДЭ, не подвергается кальцификации в течение 30 сут эксперимента, в то время как при консервации ГА наблюдается массивная кальцификация всех тканевых структур. Ранее нами показано, что на более поздних сроках (60 сут подкожной имплантации) кальциевые депозиты выявляются в эластиновых волокнах ДЭ-обработанной вены [3], поэтому можно предполагать, что эпоксидная консервация не только подавляет кальциноз весьма значительной коллагеновой части данного биоматериала, но и отсрочивает начало кальцификации ксеновенозного эластина. Хорошо известно, что биологические протезы, содержащие фрагменты корня свиной аорты, несут высокий риск развития ранней кальцификации, вне зависимости от того, были они консервированы альдегидным или эпоксидным сшивающим агентом [12, 16, 19]. Эти клинические наблюдения совпадают с экспериментальными данными [10, 21]. В то же время для ксеновенозной стенки, сшитой ГА (кондуиты Contegra, Medtronic Inc.), кальцификация не является ведущей проблемой, хотя и отмечается у части больных [3, 19]. Таким образом, несмотря на то, что оба исследованных биоматериала являются эластин-содержащими, их кальцификация обусловлена не только наличием эластина как такового, но и, по-видимому, различиями в аминокислотном составе структурных белков и в соотношении компонентов тканевой структуры (коллаген, эластин, гладкомышечные клетки), а также влияниями других факторов микроокружения.

До сих пор остается слабо изученным вопрос об антикальциевой активности бисфосфоновых соединений, иммобилизованных на ксеноматериале кардиоваскулярных имплантатов. В 1980–1990-е годы было опубликовано несколько работ, посвященных бисфосфонатной модификации ГА-консервированных тканей, после чего, несмотря на полученные позитивные результаты, интерес к данному направлению угас. Наибольшей популярностью всегда пользовалась памидроновая кислота [16, 23] в силу того, что это – достаточно хорошо изученный официальный препарат; он имеет короткую карбоновую цепь с концевой первичной аминогруппой, которая легко связывается с остаточными группами основного консерванта, всегда присутствующими в биоматериале; центральный атом углерода связан,

помимо двух фосфоновых групп, с гидроксильной группой. Считается, что эта гидроксильная группа усиливает способность бисфосфонатов блокировать кристаллизацию гидроксиапатита [22]. Антикальциевое действие памидроновой кислоты было доказано при иммобилизации ее на ГА-обработанный перикард, но для аортальной стенки она была неэффективна. В связи с этим H.S. Rapoport et al. предложили использовать для консервации аорты вещества оригинального синтеза: эпоксидное соединение – триглицидиламин и бисфосфоновое соединение с концевой тиольной группой – 2-меркаптоэтилиден-1,1-бисфосфоновую кислоту (МАВР). Авторы доказали в эксперименте эффективность такого подхода [21]. Примечательно, что МАВР, как и использованная в данном исследовании КЭАБФК, не содержит гидроксила у центрального атома углерода [7]. Однако сочетание эпоксида и бисфосфонатов, использованное в настоящем исследовании, не привело к аналогичному позитивному результату, что еще раз подчеркивает тонкие влияния химической структуры соединений, которыми выполнена консервация и модификация, на кальций-связывающую активность биоматериалов. Максимальный эффект для аортальной стенки в сроки до 30 суток был получен нами при использовании глутарового альдегида и памидроновой кислоты; для ксеновенозной стенки эффективными оказались все методы консервации на основе базовой обработки диэпоксидом, а также оба исследованных бисфосфоната, иммобилизованные на ГА-консервированную ткань. Следует подчеркнуть, однако, что сроки эксперимента в данной работе недостаточны для того, чтобы окончательно судить о кальций-связывающем потенциале биоматериалов, обработанных различными методами. На основании полученных данных можно сделать заключение лишь о морфологических характеристиках и сроках начала кальцификации исследованных эластин-содержащих биоматериалов.

## ВЫВОДЫ

1. Основными субстратами кальцификации ксеноаортальной и ксеновенозной стенок являются эластин и гладкомышечные клетки.
2. Замена базового консерванта – глутарового альдегида – на диэпоксид не влияет на ранние стадии кальцификации аортальной стенки, тогда как использование диэпоксида для консервации венозной стенки блокирует кальцификацию в сроки до 30 суток.
3. Антикальциевый эффект иммобилизованных бисфосфонатов – памидроновой и 2-(2'-кар-

боксиил-амино)этилиден-1,1-бисфосфоновой кислот варьирует в зависимости от микроструктуры биоматериалов, способа базовой консервации и химической структуры бисфосфоната.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 16-15-10315).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Астапов Д.А., Караськов А.М., Семенова Е.И., Демидов Д.П. Протезирование митрального клапана биологическими протезами: непосредственные и отдаленные результаты // Хирургия. 2013. (9). 18–23.
2. Барбараиш Л.С., Журавлева И.Ю. Эволюция биопротезов клапанов сердца: достижения и проблемы двух десятилетий // Комплекс. пробл. серд.-сосуд. заболеваний. 2012. (1). 4–11.
3. Журавлева И.Ю., Карпова Е.В., Кузнецова Е.В., Юношев А.С., Коробейников А.А., Тимченко Т.П., Ничай Н.Р., Соинов И.А., Горбатов А.В. Клапаносодержащий ксеновенозный кондуит: terra incognita или tabula rasa? // Сиб. науч. мед. журн. 2016. (2). 90–101.
4. Журавлева И.Ю. Бицидная композиция для асептического хранения консервированного протезного материала из тканей животного происхождения. Патент РФ № 2580621; Опубл. 24.11.2014.
5. Кретов Е.И., Козырь К.В., Таркова А.Р., Сергеевичев Д.С., Коробейников А.А., Тимченко Т.П., Зубарев Д.Д., Зыков И.С., Байструков В.И. Первый опыт траскатерной имплантации прототипа нового самораскрывающегося протеза аортального клапана в эксперименте // Патол. кровообращения и кардиохирургия. 2016. 20. (4). 176–183.
6. Alferiev I.S., Mikhailin N.V. Reactions of vinylidenediphosphonic acid with nucleophiles. 4. Addition of amino acids, diastereotopy of phosphorus atoms in the addition products // Bull. Russ. Acad. Div. Chem. Sci. 1992. 41. (9). 1709–1711.
7. Alferiev I.S., Connolly J.M., Levy R.J. A novel mercapto-bisphosphonate as an efficient anticalcification agent for bioprosthetic tissues // J. Organometallic Chem. 2005. 690. 2543–2547.
8. Andreas M., Wallner S., Ruetzler K., Wiedemann D., Ehrlich M., Heinze G., Binder T., Moritz A., Hiesmayr M.J., Kocher A., Laufer G. Comparable long-term results for porcine and pericardial prostheses after isolated aortic valve replacement // Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2015. 48. (4). 557–561.
9. Bailey M.T., Pillarisetti S., Xiao H., Vyavahare N.R. Role of elastin in pathologic calcification of xenograft heart valves // J. Biomed. Mater. Res. A. 2003. 66. (1). 93–102.
10. Connolly J.M., Bakay M.A., Alferiev I.S., Gorman R.C., Gorman J.H., 3rd, Kruth H.S., Ashworth P.E., Kutty J.K., Schoen F.J., Bianco R.W., Levy R.J. Triglycidyl amine crosslinking combined with ethanol inhibits bioprosthetic heart valve calcification // Ann. Thorac. Surg. 2011. 92. (3). 858–65.
11. Jorge-Herrero E., Garcia Paez J.M., Del Castillo-Olivares Ramos J.L. Tissue heart valve mineralization: Review of calcification mechanisms and strategies for prevention // J. Appl. Biomater. Biomech. 2005. 3. (2). 67–82.
12. Karaskov A., Sharifulin R., Zheleznev S., Demin I., Lenko E., Bogachev-Prokophiev A. Results of the Ross procedure in adults: a single-centre experience of 741 operations // Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2016. 49. (5). e97–e104.
13. Karaskov A., Bogachev-Prokophiev A., Sharifulin R., Zheleznev S., Demin I., Pivkin A., Zhuravleva I. Right ventricular outflow tract replacement with xenografts in Ross patients older than 60 years // Ann. Thorac. Surg. 2016. 101. (6). 2252–2259.
14. Kieczkowski G.R., Jobson R.B., Melillo D.G., Reinhold D.F., Grenda V.J., Shinkai I. Preparation of (4-amino-1-hydroxybutylidene)bisphosphonic acid sodium salt, MK217 (alendronate sodium). An improved procedure for the preparation of 1-hydroxy-1,1-bisphosphonic acids // J. Org. Chem. 1995. 60. 8310–8312.
15. Liu J., Zhong S., Lan H., Meng X., Zhang H., Fan Y., Wang Y., Wang C., Wang Z. Mapping the calcification of bovine pericardium in rat model by enhanced micro-computed tomography // Biomaterials. 2014. 35. (29). 8305–8311.
16. Mery C.M., Guzmán-Prunedá F.A., De León L.E., Zhang W., Terwelp M.D., Bocchini C.E. et al. Risk factors for development of endocarditis and reintervention in patients undergoing right ventricle to pulmonary artery valved conduit placement // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2016. 151. (2). 432–439.
17. Nimni M.E., Ertl D., Villanueva J., Nimni B.S. Inhibition of ectopic calcification of glutaraldehyde crosslinked collagen and collagenous tissues by a covalently bound diphosphonate (APD) // Am. J. Cardiovasc. Pathol. 1990. 3. (3). 237–45.
18. Nojiri C., Okano T., Grainger D., Park G.K., Nakahama S., Suzuki K., Kim S.W. Evaluation of nonthrombogenic polymers in a new rabbit A-A shunt model // ASAIO Trans. 1987. 33. 596–601.
19. Ong K., Boone R., Gao M., Carere R., Webb J., Kiess M., Grewal J. Right ventricle to pulmonary artery conduit reoperations in patients with tetralogy of fallot or pulmonary atresia associated with ventricular septal defect // Am. J. Cardiol. 2013. 111. (11). 1638–1643.
20. Paule W.J., Bernick S., Strates B., Nimni M.E. Calcification of implanted vascular tissues associated with elastin in an experimental animal model // J. Biomed. Mater. Res. 1992. 26. (9). 1169–1177.



21. *Rapoport H.S., Connolly J.M., Fulmer J., Dai N., Murti B.H., Gorman R.C., Gorman J.H., Alferiev I., Levy R.J.* Mechanisms of the *in vivo* inhibition of calcification of bioprosthetic porcine aortic valve cusps and aortic wall with triglycidylamine/mercapto bisphosphonate // *Biomaterials*. 2007. 28. (4). 690–699.
22. *Van Gelder J.M., Breuer E., Schlossman A., Ornoy A., Mönkkönen J., Similä J., Klenner T., Stadler H., Krempien B., Patlas N., Golomb G.* *In vitro* and *in vivo* effects of tetrakisphosphonates on bone resorption, tumor osteolysis, ectopic calcification, and macrophages. // *J. Pharm. Sci.* 1997. 86. (3). 283–9.
23. *Webb C.L., Schoen F.J., Levy R.J.* Covalent binding of aminopropane-hydroxydiphosphonate to glutaraldehyde residues in pericardial bioprosthetic tissue: stability and calcification inhibition studies // *Exp. Mol. Pathol.* 1989. 50. 291–302.

## **CALCIFICATION OF ELASTIN-CONTAINING XENOGENIC BIOMATERIALS: INFLUENCE OF CONSERVANTS AND BISPHOSPHONATES**

**Irina Yurevna ZHURAVLEVA<sup>1</sup>, Mariya Borisovna VASILIEVA<sup>1</sup>, Tatyana Pavlovna TIMCHENKO<sup>1</sup>, Elena Viktorovna KUZNETSOVA<sup>1</sup>, Yuliya Fedorovna POLIENKO<sup>2,3</sup>, Nataliya Romanovna NICHAY<sup>1</sup>, Igor Alekseevich GRIGORYEV<sup>1,2</sup>, Aleksandr Vladimirovich BOGACHEV-PROKOFIEV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *E.Meshalkin NMRC of Minzdrav of Russia  
630055, Novosibirsk, Rechkunovskaya str., 15*

<sup>2</sup> *Novosibirsk Institute of Organic Chemistry n.a. N.N. Vorozhtsov of SB RAS  
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 9*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State University  
630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2*

Objective: Histological evaluation of early stages of calcification of the walls of the porcine aorta and bovine jugular veins preserved with glutaraldehyde and diglycidyl ether of ethylene glycol and modified with amino-containing bisphosphonic compounds in the experimental model of subcutaneous implantation to rats. Materials and methods: subcutaneous implantation of biomaterial samples to rats for 10, 20 and 30 days with subsequent study of calcium deposits by light microscopy using Von Kossa staining. Results: Elastin and smooth muscle cells are the main substrates for the calcification of xeno-aortic and xenovenous walls. The accumulation of calcium in the aorta does not depend on the basic preservation. Treatment with a diepoxide inhibits the calcination of xenobium up to 30 days of the experiment. The anticalcium effect of immobilized bisphosphonates-pamidron and 2- (2'-carboxyethyl-amino) ethylidene-1,1-bisphosphonic acids varies depending on the microstructure of the biomaterials, the basic preservation method and the chemical structure of the bisphosphonate.

**Key words:** cardiovascular xenoprosthesis, glutaraldehyde, diepoxide, anticalcium treatment, bisphosphonates, elastin-containing tissues.

*Zhuravleva I.Yu.* – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory of bioprosthetics of the center for new technologies, e-mail: [i\\_zhuravleva@meshalkin.ru](mailto:i_zhuravleva@meshalkin.ru)

*Vasilieva M.B.* – candidate of medical sciences, researcher of laboratory of experimental surgery and morphology of center for new technologies, e-mail: [m\\_vasilyeva@meshalkin.ru](mailto:m_vasilyeva@meshalkin.ru)

*Timchenko T.P.* – junior researcher of laboratory for orthotics of the center for new technologies, e-mail: [t\\_timchenko@meshalkin.ru](mailto:t_timchenko@meshalkin.ru)

*Kuznetsova E.V.* – intern researcher of laboratory for orthotics of the center for new technologies, e-mail: [ev\\_kuznetsova@meshalkin.ru](mailto:ev_kuznetsova@meshalkin.ru)

*Polienko Yu.F.* – candidate of chemical sciences, senior researcher laboratory of nitrogen compounds, senior researcher of the laboratory of free radical chemistry, e-mail: [polienko@nioch.nsc.ru](mailto:polienko@nioch.nsc.ru)

*Nichay N.R.* – candidate of medical sciences, cardiovascular surgeon of cardiosurgical department of congenital heart diseases department, e-mail: [n\\_nichay@meshalkin.ru](mailto:n_nichay@meshalkin.ru)

*Grigoriev I.A.* – doctor of chemical sciences, professor, head of laboratory for nitrogen compounds, senior researcher of the center of anesthesiology and emergency medicine, e-mail: [grig@nioch.nsc.ru](mailto:grig@nioch.nsc.ru)

*Bogachev-Prokofiev A.V.* – doctor of medical sciences, head of center of new technologies, e-mail: [a\\_bogachev@meshalkin.ru](mailto:a_bogachev@meshalkin.ru)

**МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КРОВОПОТЕРИ В ХИРУРГИИ ИДИОПАТИЧЕСКОГО СКОЛИОЗА**

Майя Николаевна ЛЕБЕДЕВА<sup>1</sup>, Анастасия Александровна ИВАНОВА<sup>1</sup>,  
Михаил Витальевич МИХАЙЛОВСКИЙ<sup>1</sup>, Виталий Леонидович ЛУКИНОВ<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

<sup>2</sup> Институт вычислительной математики и математической геофизики СО РАН  
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 6

<sup>3</sup> Новосибирский государственный университет,  
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

**Цель исследования:** разработать математические модели прогнозирования интраоперационной кровопотери при планировании хирургической коррекции сколиоза и обосновать целесообразность их применения в клинической практике. **Материал и методы.** Проведен анализ степени тяжести интраоперационной кровопотери в процессе хирургического лечения 395 больных с идиопатическим сколиозом. Анализировались факторы, которые наиболее значимо влияют на величину интраоперационной кровопотери: продолжительность хирургического вмешательства, количество выполненных уровней транспедикулярной фиксации, повышение внутрибрюшного давления. **Результаты.** Продемонстрировано, что использование интраоперационной укладки пациента в положении лежа на животе с обеспечением полной декомпрессии передней брюшной стенки позволило избежать эффекта повышения внутрибрюшного давления, минимизировать выраженность интраоперационного венозного кровотечения, что привело к снижению кровопотери на 60,0 %. Подтверждением этому является тот факт, что у 50,9 % больных интраоперационная кровопотеря не превысила 15 % объема циркулирующей крови, у 33,7 % объем интраоперационной кровопотери находился в пределах от 15 до 30 % объема циркулирующей крови, что позволило не проводить гемотрансфузию с использованием компонентов донорской крови у 75,9 % оперированных и тем самым уменьшить реальный риск гемотрансфузионных осложнений. На основе выявленных закономерностей, путем проведения регрессионного анализа, разработаны математические модели прогнозирования кровопотери для операций дорсального спондилодеза с применением техники транспедикулярной фиксации. **Заключение.** Полная декомпрессия передней брюшной стенки больного является технологией кровесбережения при операциях на позвоночнике, выполняемых в положении пациента лежа на животе. Использование математических моделей прогнозирования кровопотери может явиться эффективным средством оптимизации системы периоперационного кровесбережения в хирургии сколиоза на основе персонализированного подхода к прогнозированию и профилактике развития геморрагического синдрома.

**Ключевые слова:** идиопатический сколиоз, интраоперационная кровопотеря, математическое моделирование, прогнозирование кровопотери.

Характерной особенностью операций на позвоночнике, в частности при хирургической коррекции сколиоза, является повышенная кровопотеря, которая приводит к многочисленным осложнениям [5, 15, 16, 20]. В качестве основных определяющих ее факторов рассматриваются: вынужденное повреждение костных структур

позвоночника, протяженность зоны дорсального спондилодеза и технологические особенности применяемого инструментария. Большинство вмешательств на задних структурах позвоночника выполняется в условиях повышения внутрибрюшного давления, связанного либо с положением больного на операционном столе, либо с

*Лебедева М.Н.* – д.м.н., зам. главного врача по анестезиологическому обеспечению, г.н.с. отделения анестезиологии и реаниматологии, e-mail: MLebedeva@niito.ru

*Иванова А.А.* – врач-анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реаниматологии, e-mail: aivanova.nsk@yandex.ru

*Михайловский М.В.* – д.м.н., проф., руководитель отделения детской и подростковой вертебрологии, e-mail: MMihailovsky@niito.ru

*Лукинов В.Л.* – к.ф.-м.н., с.н.с. лаборатории численного анализа стохастических дифференциальных уравнений, ассистент кафедры прикладной математики, e-mail: vitality.l.lukinov@sci-boost.com

техническими особенностями доступа к позвоночнику и манипуляциях на его структурах, что создает условия для компрессии нижней полой вены [7, 8, 11, 16]. Кровопотеря при операциях на позвоночнике отличается преимущественно венозным характером, так как известно, что в случаях сдавления нижней полой вены именно позвоночные венозные сосудистые сплетения представляют собой один из мощных коллатеральных путей оттока крови к правым отделам сердца. Ряд исследователей указывают на высокую степень корреляции между кровопотерей и величиной внутрибрюшного давления [8, 17].

В большинстве случаев степень тяжести интраоперационной кровопотери требует использования компонентов крови уже во время хирургического вмешательства [2, 18]. Однако до настоящего времени существуют реальные риски, связанные с применением компонентов крови, особенно донорской: острое повреждение легких, гемолитические трансфузионные реакции и вероятность вирусного инфицирования [15, 16]. Таким образом, становится очевидным, что, с одной стороны, гемотрансфузионная терапия служит неотъемлемым компонентом обеспечения периоперационного периода в хирургии сколиоза, с другой – она сопряжена с реальными рисками развития тяжелых осложнений. Естественно, что этот дополнительный фактор операционного риска является запросом для решения задач, связанных с прогнозированием ожидаемого объема кровопотери, снижением степени тяжести кровопотери и, следовательно, возможностью оптимальной организации трансфузиологического обеспечения выполняемых операций с целью повышения уровня безопасности оперируемых больных. Указанные обстоятельства явились основанием для формулировки цели исследования.

Цель исследования – разработать математические модели прогнозирования интраоперационной кровопотери при планировании хирургической коррекции сколиоза и обосновать целесообразность их применения в клинической практике.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Анализировалась медицинская документация 395 больных детского и юношеского возраста с идиопатическим сколиозом, впервые оперированных по поводу деформаций позвоночника в отделении детской ортопедии № 1 Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России в период с 2011 по 2015 г.: с деформациями позвоночника IV степени – 301 (76 %) пациент, III степени – 94

(24 %) человека. Всем больным была выполнена дорсальная инструментальная коррекция деформаций позвоночника с применением техники транспедикулярной фиксации (ТПФ) в положении больного лежа на животе (prone position). Из исследования были исключены больные с заболеваниями крови, которые выявлялись на этапе предоперационного обследования.

С целью профилактики повышения внутрибрюшного давления и нарушений кровотока по нижней полой вене у всех больных использовалось улучшенное интраоперационное положение. На стандартном хирургическом столе были оперированы 92 человека, разгрузка передней брюшной стенки в этих случаях достигалась применением наполненного воздухом резинового надувного круга, который подкладывали под живот оперируемого больного так, чтобы передняя брюшная стенка не касалась плоскости стола. Однако такой вариант укладки полностью не исключал внешнего воздействия на органы грудной и брюшной полости и далее этот вариант профилактики повышения внутрибрюшного давления обозначен нами как «неполная декомпрессия передней брюшной стенки». На специализированном столе для спинальной хирургии, конструкция которого позволяла исключить даже минимальное компримирующее воздействие на область живота больного, были оперированы 303 человека. Указанный вариант профилактики повышения внутрибрюшного давления далее обозначен нами как «полная декомпрессия передней брюшной стенки».

Все операции были выполнены в условиях мультимодальной общей анестезии (севофлуран, фентанил, кетамин, клофелин, тракриум). Для определения величины интраоперационной кровопотери применяли гравиметрический метод и измерение объема аспирированной из раны крови. Должный объем циркулирующей крови (ОЦК) определяли по общепринятым формулам с учетом возраста больных: дети в возрасте 6–12 лет – 80 мл/кг, старше 12 лет и взрослые – 70 мл/кг (ГОСТ Р 53470-2009). Объем и компонентный состав инфузионно-трансфузионного обеспечения выполняемых операций определялся величиной кровопотери.

При анализе медицинской документации нами установлено, что интраоперационная кровопотеря значительно варьировала и определялась пределами от 5 до 78 % ОЦК. Учитывая это обстоятельство, критерием формирования выделенных групп наблюдения явилась степень тяжести зарегистрированной кровопотери; для ее оценки была применена классификация ВОЗ (2001 г.), учитывающая объем дефицита ОЦК,

выраженный в % ОЦК. Были выделены четыре группы наблюдения: I группа ( $n = 201$ ), интраоперационная кровопотеря соответствовала I степени тяжести и составила до 15 % ОЦК; II группа ( $n = 133$ ), интраоперационная кровопотеря соответствовала II степени тяжести и составила 15–30 % ОЦК; III группа ( $n = 42$ ), интраоперационная кровопотеря соответствовала III степени тяжести и составила 31–40 % ОЦК; IV группа ( $n = 19$ ), интраоперационная кровопотеря соответствовала IV степени тяжести и составила более 40 % ОЦК. Средний возраст больных в группах составил: I группа – 17,2 [14,24–20,36] года; II группа – 16,9 [13,56–20,04] года; III группа – 16,5 [13,08–19,92] года; IV группа – 16,7 [13,01–20,39] года. Средняя масса тела: I группа – 51 [48–60] кг, II группа – 52 [46–56] кг, III группа – 46 [41–52] кг, IV группа – 44 [38–52] кг.

Далее анализировались факторы, которые, по нашему мнению, с наибольшей вероятностью и наиболее значимо влияют на величину интраоперационной кровопотери: продолжительность хирургического вмешательства, количество выполненных уровней ТПФ, повышение внутрибрюшного давления. Внутрибрюшное давление контролировали непрямым методом по G. Collee с соавторами на следующих этапах: после установки желудочного зонда в положении больного лежа на спине, после поворота пациента в положение лежа на животе, скелетирование позвоночника, монтаж инструментария [10].

Учитывая то обстоятельство, что с целью профилактики повышения внутрибрюшного давления использовались различные технологические приемы, нами была принята нулевая (фактор повышения внутрибрюшного давления значимо не влияет на объем интраоперационной кровопотери) и альтернативная (фактор повышения внутрибрюшного давления значимо влияет на объем интраоперационной кровопотери) гипотезы.

Статистические расчеты проводились в программе Rstudio (version 0.99.879 – © 2009–2016 RStudio, Inc., США). Эмпирические распределения данных были испытаны на согласие с законом нормального распределения по критерию Колмогорова. Ввиду малого количества нормальных показателей сравнительный анализ в группах проводился непараметрическими методами: U-критерием Манна – Уитни, критерием Краскела – Уоллиса. Для учета эффекта множественных попарных сравнений использовалась поправка Бенджамини – Хохберга. Deskриптивные характеристики представлены в виде: медиана [первый квартиль – третий квартиль], процент от общего числа в группе для категориальных данных. Сравнение бинарных и категориальных показателей

проводилось точным двусторонним критерием Фишера. Попарные статистические взаимосвязи изучали путем расчета коэффициентов корреляции Спирмена. Выявление значимых предикторов и построение формул для прогнозирования кровопотери проводили методом многофакторной линейной регрессии. Статистические гипотезы проверяли при критическом уровне значимости  $p = 0,05$ . Различие считалось статистически значимым, если  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ степени тяжести интраоперационной кровопотери позволил установить, что у 50,9 % больных общей выборки она не превысила 15 % ОЦК, у 33,7 % составляла от 15 до 30 % ОЦК, у 18,0 % была значительной и соответствовала III степени тяжести – 31–40 % ОЦК, у 13,4 % была массивной и по классификации ВОЗ соответствовала IV степени тяжести – более 40 % ОЦК. Полученные данные вполне согласуются с имеющимися литературными сведениями о том, что интраоперационная кровопотеря в хирургии сколиоза значительно варьирует [1, 9, 12, 13, 19].

В табл. 1 представлены основные характеристики выполненных хирургических операций. Как видно из данных, представленных в табл. 1, статистически значимых отличий по количеству выполненных уровней ТПФ в группах зарегистрировано не было. При этом получено значимое статистическое различие по объему интраоперационной кровопотери. Не установлено достоверных различий только между III и IV группами по объему кровопотери, выраженной в % ОЦК, а также по продолжительности хирургического вмешательства.

Все операции выполнялись с применением отработанной в клинике технологии в нефизиологичном положении больного на операционном столе – лежа на животе лицом вниз. Известно, что для реализации ограничения давления на переднюю брюшную стенку используются различные укладки больного на операционном столе, большинство из которых полностью не исключают компрессию передней брюшной стенки различной степени выраженности. В нашем исследовании в условиях неполной декомпрессии передней брюшной стенки были прооперированы 92 пациента: в I группе 12 (6,0 %), во II группе 27 (20,3 %), в III группе 37 (88,1 %), в IV группе 16 (84,2 %). В условиях полной декомпрессии передней брюшной стенки были прооперированы 303 больных: в I группе 189 (94 %), во II группе 106 (79,7 %), в III группе пять (11,9 %), в IV группе три (15,8 %).

Таблица 1

Основные характеристики примененных технологий хирургического лечения

Показатель	Группа наблюдений				Критерий Краскела – Уоллиса, <i>p</i> -уровень
	I, <i>n</i> = 201	II, <i>n</i> = 133	III, <i>n</i> = 42	IV, <i>n</i> = 19	
Количество уровней ТПФ	4 [3–5]	4 [3–5]	4 [3–5]	4 [3–4,5]	Общее сравнение: 0,839; попарное сравнение: I–II: 0,966; I–III: > 0,999; II–III: 0,879; I–IV: > 0,999; II–IV: > 0,999; III–IV: > 0,999
Продолжительность вмешательства, мин	165 [140–190]	150 [130–180]	197,5 [166,2–260]	200 [180–245]	Общее сравнение: < 0,001; попарное сравнение: I–II: 0,002; I–III: < 0,001; II–III: < 0,001; I–IV: < 0,001; II–IV: < 0,001; III–IV: 0,607
Интраоперационная кровопотеря, мл	450 [350–500]	700 [600–850]	1100 [950–1200]	1500 [1250–1750]	Общее сравнение: < 0,001; попарное сравнение: I–II: < 0,001; I–III: < 0,001; II–III: < 0,001; I–IV: < 0,001; II–IV: < 0,001; III–IV: < 0,001
Интраоперационная кровопотеря, % ОЦК	12,0 [10,0–13,0]	20,0 [17,0–23,0]	34,0 [30,3–36,0]	45,0 [43,5–53,0]	Общее сравнение: < 0,001; попарное сравнение: I–II: < 0,001; I–III: < 0,001; II–III: < 0,001; I–IV: < 0,001; II–IV: < 0,001; III–IV: 0,329

Таблица 2

Долевое распределение использованных методов профилактики повышения внутрибрюшного давления, %

Тип декомпрессии	Группа наблюдений				Точный двусторонний критерий Фишера, <i>p</i> -уровень
	I	II	III	IV	
Неполная декомпрессия передней брюшной стенки, <i>n</i> = 92	13	30	40	17	< 0,001
Полная декомпрессия передней брюшной стенки, <i>n</i> = 303	63	34	2	1	< 0,001

Таблица 3

Объем интраоперационной кровопотери при различных методах профилактики повышения внутрибрюшного давления

Параметр	Неполная декомпрессия передней брюшной стенки, <i>n</i> = 92	Полая декомпрессия передней брюшной стенки, <i>n</i> = 303	U-критерий Манна – Уитни, <i>p</i> -уровень
Кровопотеря, мл	1100 [937,5–1212,5]	500 [400–650]	< 0,001
Кровопотеря, % ОЦК	30 [24,5–38]	14 [11–18]	< 0,001

В табл. 2 представлено долевое распределение использованных методов профилактики повышения внутрибрюшного давления в выделенных группах: максимальное число больных, оперированных в условиях полной декомпрессии передней брюшной стенки, вошли в I группу; максимальное число больных, оперированных в условиях неполной декомпрессии передней брюшной стенки, вошли в III группу наблюдений.

В табл. 3 представлены сведения о результирующей величине интраоперационной кровопотери у больных, оперированных в условиях различных методов профилактики повышения внутрибрюшного давления. Обеспечение полной декомпрессии передней брюшной стенки привело к статистически значимому снижению объема интраоперационной кровопотери – на 60,0 %. Измерение внутрибрюшного давления выполня-

ли только у больных, оперированных в условиях обеспечения полной декомпрессии передней брюшной стенки. Контроль динамики внутрибрюшного давления на основных этапах операции показал, что ни у одного из оперированных увеличения показателей внутрибрюшного давления выше нормальных значений не наблюдалось. Показатели внутрибрюшного давления на этапах исследования не выходили за пределы нормальных значений и составили 2,2 [0,9; 3,5] мм рт. ст. И хотя измерение внутрибрюшного давления выполнялось только у больных, оперированных в условиях полной декомпрессии передней брюшной стенки, полученные данные о степени тяжести перенесенной кровопотери позволили отвергнуть выдвинутую нулевую гипотезу об отсутствии разницы кровопотери в группах с разной степенью декомпрессии передней брюшной стенки. Столь значительное снижение кровопотери значительно уменьшило и потребность в применении компонентов донорской крови. В I группе гемотрансфузии не проводились, во II группе гемотрансфузии проводились у 36 (27,1 %) больных, в III группе у 40 (95,2 %) больных, в IV группе – всем больным.

Таким образом, нами путем статистического анализа убедительно продемонстрировано, что использование интраоперационной укладки пациента в положении лежа на животе с обеспечением полной декомпрессии передней брюшной стенки позволило избежать эффекта повышения внутрибрюшного давления на всех этапах хирургического вмешательства и минимизировать выраженность интраоперационного венозного кровотечения. Становится очевидным, что увеличение внутрибрюшного давления является основным определяющим кровопотерю фактором, что согласуется с сообщениями других исследователей [8, 14]. Полученные данные позволяют рассматривать обеспечение полной декомпрессии передней брюшной стенки как технологический прием, полноправно относящийся к технологиям кровосбережения при операциях на позвоночнике, выполняемых в положении больного лежа на животе.

В то же время в IV группе наблюдения нами отмечены три случая (16,0 %) развития у больных, оперированных в условиях полной декомпрессии передней брюшной стенки, массивной интраоперационной кровопотери при штатной хирургической ситуации. Это обстоятельство свидетельствует о том, что в ряде случаев данный технологический прием не предотвращает развития геморрагического синдрома, что свидетельствует о существовании и других, не менее значимых факторов, определяющих степень кровоточивости вынужденно поврежденных в зоне

операции тканей. Наиболее вероятными причинами развития массивной кровопотери в этих клинических ситуациях являлись особенности функционального состояния системы гемостаза, что требует дальнейших развернутых исследований на большом клиническом материале [3, 6].

Значимой сложностью в хирургии сколиоза является и то обстоятельство, что объем интраоперационной кровопотери трудно прогнозировать. Это затрудняет выбор стратегии в отношении использования кровосберегающих технологий. Однако именно такая информация является единственным способом для решения задач, связанных с эффективностью их использования. На основе выявленных в ходе выполнения работы закономерностей путем проведения регрессионного анализа нами разработаны математические модели прогнозирования кровопотери для операций дорсального спондилодеза с применением техники ТПФ. Модели построены с помощью методов многофакторного регрессионного анализа, при этом вместо апостериорного предиктора времени оперативного вмешательства в моделях использовался априорный предиктор – количество уровней ТПФ. Учитывая то обстоятельство, что хирургические клиники имеют разное оснащение, разработанные нами модели предусматривают реальные технологические возможности ортопедических клиник.

При невозможности обеспечения полной декомпрессии передней брюшной стенки может быть использована следующая модель:

Формула 1:  $\% \text{ОЦК} = 1,93 \times \text{количество уровней ТПФ} - 0,3 \times \text{масса тела} + 35,68 \pm 7,94$ , где 1,93 – коэффициент линейной регрессии; 0,3 – коэффициент линейной регрессии; 35,68 – база; 7,94 – стандартная ошибка случайного остатка модели.

При наличии возможности обеспечения полной декомпрессии передней брюшной стенки может быть использована следующая модель:

Формула 2:  $\% \text{ОЦК} = 0,34 \times \text{количество уровней ТПФ} - 0,19 \times \text{масса тела} + 25,88 \pm 6,67$ , где 0,34 – коэффициент линейной регрессии; 0,19 – коэффициент линейной регрессии; 25,88 – база; 6,67 – стандартная ошибка случайного остатка модели.

Сводные результаты регрессионного многофакторного анализа для формул 1 и 2 представлены в табл. 4.

Известно, что математическое моделирование в клинической практике эффективно используется для принятия решений по стратегии и тактике лечения пациентов [4]. Предложенные в настоящем исследовании модели являются реальным средством получения опережающей информации о количественных показателях ожидаемого

Таблица 4

Модели линейной регрессии кровопотери, выраженной в % ОЦК, у пациентов с неполной и полной декомпрессией передней брюшной стенки

Предиктор	Модель 1, n = 92		Модель 2, n = 303	
	$\alpha$ [95%-й ДИ]	p-уровень	$\alpha$ [95%-й ДИ]	p-уровень
База (пересечение)	35,68 [24,44; 46,93]	< 0,001	25,88 [21,40; 30,36]	< 0,001
Количество уровней ТПФ	1,93 [-0,03; 3,89]	0,057	0,34 [-0,06; 0,74]	0,096
Масса тела	-0,30 [-0,47; -0,13]	< 0,001	-0,19 [-0,27; -0,12]	< 0,001

*Примечание.* Модель 1 – пациенты с неполной декомпрессией передней брюшной стенки, модель 2 – пациенты с полной декомпрессией передней брюшной стенки. Остатки моделей распределены ненормально согласно критерию Шапиро – Уилка (модель 1:  $W = 0,942$ ,  $p$ -значение < 0,001, модель 2:  $W = 0,906$ ,  $p$ -значение < 0,001) и сдвинуты в отрицательном направлении (модель 1: медиана остатков = -0,65; модель 2: медиана остатков = 0,59), что говорит о переоценке доли кровопотери моделью. Модель 1: среднее значение остатков <  $10^{-16}$ , стандартная ошибка = 7,943 на 86 степенях свободы; модель 2: среднее значение остатков <  $10^{-16}$ , стандартная ошибка = 6,669 на 261 степени свободы. Модель 1: коэффициент детерминации  $R^2 = 0,164$ , модель 2:  $R^2 = 0,100$ . F-статистика проверки равенства всех коэффициентов модели нулю равна 8,434 на 2 и 86 степенях свободы (модель 1), 15,6 на 2 и 261 степенях свободы (модель 2), что соответствует  $p$ -значению < 0,001.

объема интраоперационной кровопотери при планировании хирургической коррекции сколиотической деформации позвоночника. Подтверждением этому является тот факт, что при проведении сравнительного анализа расчетных показателей ожидаемой кровопотери с фактическими данными, полученными в процессе выполнения корригирующих операций, совпадение значений отмечалось в 83 % случаев.

**Примеры клинического использования математических моделей прогнозирования объема интраоперационной кровопотери.**

*Клинический пример 1.* Больной А. 16 лет. Клинический диагноз: идиопатический неосложненный прогрессирующий мобильный компенсированный правосторонний грудной сколиоз III степени (47°); задний правосторонний реберный горб. Масса тела 60 кг. Планируемое количество уровней ТПФ – 3. Хирургическое лечение в условиях неполной декомпрессии передней брюшной стенки. По результатам расчетов предполагаемая интраоперационная кровопотеря  $23,5 \pm 7,94$  % ОЦК. Проведена хирургическая коррекция деформации позвоночника инструментарием НИТЕК. ТПФ выполнена на трех уровнях. Интраоперационная кровопотеря составила 26 % ОЦК (1100 мл).

*Клинический пример 2.* Больной В. 15 лет. Клинический диагноз: идиопатический неосложненный прогрессирующий субкомпенсированный ригидный правосторонний грудной сколиоз IV степени 98° с противоискривлением в поясничном отделе позвоночника 70°; Задний правосторонний реберно-позвоночный горб. Масса тела 50 кг. Планируемое количество уровней ТПФ – 4. Хирургическое лечение в условиях полной декомпрессии передней брюшной стенки. Расчетная интраоперационная кровопотеря

$17,7 \pm 6,67$ % ОЦК. Проведено хирургическая коррекция деформации позвоночника инструментарием НИТЕК. ТПФ выполнена на четырех уровнях. Интраоперационная кровопотеря составила 17 % ОЦК (600 мл).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Контроль интраоперационной кровопотери требует вклада и хирурга, и анестезиолога. Выполненное исследование еще раз убедительно продемонстрировало, что для решения задачи снижения интраоперационной кровопотери главенствующее значение имеет правильное интраоперационное позиционирование пациента. Именно профилактика повышения внутрибрюшного давления, путем обеспечения полной декомпрессии передней брюшной стенки оперируемого больного, высокоэффективно снижает интраоперационную кровопотерю и, следовательно, может рассматриваться как технология кровесбережения при операциях на позвоночнике, выполняемых в положении больного лежа на животе. А тщательно выполняемый хирургический гемостаз и применение системно действующих гемостатических препаратов являются эффективно действующими дополнительными компонентами достижения еще более эффективного гемостаза. Использование разработанных моделей прогнозирования кровопотери служит надежным средством получения опережающей информации, с позиций персонифицированного подхода, о количественных показателях ожидаемой интраоперационной кровопотери, реальной опасности развития геморрагического синдрома и может использоваться с целью оптимизации системы периоперационного кровесбережения в хирургии сколиоза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ежеская А.А., Прусакова Ж.Б. Эпидуральная анальгезия при операциях хирургической коррекции сколиоза // Анестезиология и реаниматология. 2012. (2). 27–30.
2. Ежеская А.А., Прусакова Ж.Б. Клинико-биохимические аспекты эндокринно-метаболического стресс-ответа и нарушений системы гемостаза при операциях на позвоночнике высокой интенсивности // Фундам. исслед. 2012. (4). 53–56.
3. Калашикова Е.В., Екимов В.М., Кривов В.А. Зависимость величины кровопотери у больных диспластическим сколиозом от вида хирургической коррекции и нарушений системы гемостаза // Проблемы хирургии позвоночника и спинного мозга: тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. Новосибирск, 1996. 83–84.
4. Карякина О.Е. Применение математических моделей в клинической практике // Экол. человека. 2012. (7). 56–60.
5. Лебедева М.Н., Агеенко А.М., Новиков В.В., Иванова А.А., Васюра А.С., Михайловский М.В., Шевченко В.П., Иванова Е.Ю. Ретроспективный анализ интраоперационной кровопотери в хирургии идиопатического сколиоза // Хирургия позвоночника. 2012. (2). 70–78.
6. Лебедева М.Н., Терещенкова Е.В., Тютрин И.И., Агеенко А.М., Иванова А.А. Применение метода низкочастотной пьезотромбоэластографии для оценки гемостатического потенциала крови у больных с идиопатическим сколиозом // Бюл. СО РАМН. 2014. 34. (6). 61–66.
7. Михайловский М.В., Фомичев Н.Г. Хирургия деформаций позвоночника. Новосибирск, 2011. 592 с.
8. Омигова М.К. Изучение давления в нижней полой вене как фактора, определяющего кровопотерю при операциях на позвоночнике: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 1974.
9. Фищенко В.Я. Сколиоз. Макеевка: Полипресс, 2005. 558 с.
10. Collee G.G., Lomax D.M., Ferguson C., Hanson G.C. Bedside measurement of intra-abdominal pressure (IAP) via an indwelling naso-gastric tube: clinical validation of the technique // Intens. Care Med. 1993. 19. 478–480.
11. Cristante A.F., Borges P.A., Barbosa A.R., Letaif O.B., Marcon R.M., Barros Filho T.E. Predictive factors for perioperative blood transfusion in surgeries for correction of idiopathic, neuromuscular or congenital scoliosis // Clinics (Sao Paulo). 2014. 69. (10). 672–676.
12. Ialenti M.N., Lonner B.S., Verma K., Dean L., Valdevit A., Errico T. Predicting operative blood loss during spinal fusion for adolescent idiopathic // J. Pediatr. Orthop. 2013. 33. 372–376.
13. Koerner J.D., Patel A., Zhao C., Schoenberg C., Mishra A., Vives M.J., Sabharwal S. Blood loss during posterior spinal fusion for adolescent idiopathic scoliosis // Spine. 2014. 39. 1479–87.
14. Li C., Yang M., Wang C., Fan J., Chen Z., Wei X., Zhang G., Bai Y., Zhu X., Xie Y., Li M. Preoperative factors predicting intraoperative blood loss in female patients with adolescent idiopathic scoliosis // Medicine (Baltimore). 2015. 94. (1). e359.
15. Lieberman L., Maskens C., Cserti-Gazdewich C., Hansen M., Lin Y., Pendergrast J., Yi Q.L., Callum J. A retrospective review of patient factors, transfusion practices, and outcomes in patients with transfusion-associated circulatory overload // Transfus. Med. Rev. 2013. 27. 206–212.
16. Minhas S.V., Chow I., Bosco J., Otsuka N.Y. Assessing the rates, predictors, and complications of blood transfusion volume in posterior arthrodesis for adolescent idiopathic scoliosis // Spine. 2015. 40. 1422–1430.
17. Park C.K. The effect of patient positioning on intraabdominal pressure and blood loss in spinal surgery // Anaesth. Analg. 2000. 91. 552–557.
18. Sarwahi V., Wendolowski S.F., Wang D., Lo Y., Pawar A., Lebwohl N.H., Thompson G.H., Akbarnia B.A. Blood loss, transfusion, and conservation trends in scoliosis surgery over the past 10 years. Meta-analysis of SRS meeting abstract by the historical committee // IMAST 2015: abstr. 22nd Int. Meet. on Advanced Spine Techniques. Kuala Lumpur, 2015. 162–163.
19. Tse E.Y., Cheung W.Y., Ng K.F., Luk K.D. Reducing perioperative blood loss and allogenic blood transfusion in patients undergoing major spine surgery // J. Bone Joint Surg. Am. 2011. 93. 1268–1277.
20. Yu X., Xiao H., Wang R., Huang Y. Prediction of massive blood loss in scoliosis surgery from preoperative variables // Spine. 2013. 38. (4). 350–355.



## **MATHEMATICAL MODELS OF BLOOD LOSS PREDICTION IN IDIOPATHIC SCOLIOSIS SURGERY**

**Maiya Nikolaevna LEBEDEVA<sup>1</sup>, Anastasiya Alexandrovna IVANOVA<sup>1</sup>,  
Mikhail Vitalievich MIKHAYLOVSKIY<sup>1</sup>, Vitaliy Leonidovich LUKINOV<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> *Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Ya.L. Tsiyvan  
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

<sup>2</sup> *Institute of Computational Mathematics and Mathematical Geophysics SB RAS  
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 6*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State University  
630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2*

---

**Aim of the study:** to develop mathematical models of prediction of intraoperative blood loss in scheduling of scoliosis surgical correction and to prove their applicability in clinical practice. **Material and methods.** The analysis of intraoperative hemorrhage severity level in the course of surgical treatment of 395 patients with idiopathic scoliosis has been carried out. The factors significantly affecting the size of intraoperative blood loss were analyzed: duration of surgical intervention, the number of the executed TPF levels, rising of intra abdominal pressure. **Results.** It has been shown that use of patient prone intraoperative positioning with control of full decompression of arterial abdominal wall has allowed avoiding effect of increase in intra belly pressure, minimizing severity of intraoperative venous bleeding that has led to decrease in blood loss by 60,0 %. Confirmation to it is the fact that intraoperative blood loss in 50,9 % of patients did not exceed 15 % of circulating blood volume, the volume of intraoperative blood loss in 33,7 % of patients was in the range from 15 to 30 % of circulating blood volume. That has allowed not to carry out a hemotransfusion with use of donor blood components in 75,9 % of operated patients and thereby to reduce the real risk of haemotransfusion complications. Mathematical models of blood loss forecasting for dorsal spondylosyndesis operations with the TPF equipment use have been developed on the basis of the revealed mechanisms by carrying out the regression analysis. **Conclusion.** Full decompression of arterial abdominal wall of patients is blood saving approach in spine surgery carrying out in patient prone intraoperative positioning. Use of mathematical models of blood loss prediction can be an effective measure of perioperative blood saving technologies optimization in scoliosis surgery on the basis of the personified approach to forecasting and prophylaxis of hemorrhagic syndrome development.

---

**Key words:** idiopathic scoliosis, intraoperative blood loss, mathematical modeling, prediction of blood loss.

---

*Lebedeva M.N. – doctor of medical sciences, deputy chief physician for anesthesiology providing,  
chief researcher of the anesthesiology and emergency medicine department*

*Ivanova A.A. – anesthesiologist of the anesthesiology and emergency medicine department*

*Mihaylovskiy M.V. – doctor of medical sciences, professor, head of the children's and  
adolescent vertebrology department*

*Lukinov V.L. – candidate of physical and mathematical sciences, senior researcher of the laboratory  
for numerical analysis of stochastic differential equations, assistant of the chair for applied mathematics  
e-mail: vitaliy.l.lukinov@sci-boost.com*

## ПРОБЛЕМЫ СТАРТОВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ

Светлана Борисовна САЮТИНА, Владимир Викторович ШПРАХ

*Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России  
664049, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100*

Цель исследования – изучение факторов, ограничивающих стартовую терапию нелеводопосодержащими противопаркинсоническими препаратами в пожилом возрасте, и оценка длительности их применения в зависимости от типа прогрессирования болезни Паркинсона. **Материал и методы.** Выполнено проспективное 4-летнее исследование 52 пациентов с дебютом болезни Паркинсона (1,5–2 стадия по Хену и Яру) в возрасте 65 лет и старше (средний возраст  $71,8 \pm 4,3$  года). 42 пациентам было проведено суточное мониторирование артериального давления. **Результаты и их обсуждение.** Выявлено, что 61,5 % пациентов с дебютом болезни Паркинсона в пожилом возрасте имели ограничения к назначению нелеводопосодержащих препаратов в виде стартовой монотерапии. В 23 % случаев ортостатическая гипотензия ограничивала применение агонистов дофаминовых рецепторов. Ишемическая болезнь сердца с хронической сердечной недостаточностью 2 степени у 17,3 % пациентов исключала возможность назначения пирибедила, препаратов амантадина. Применение гидрохлоротиазида, наличие закрытоугольной глаукомы и гиперплазии или аденомы предстательной железы являлись противопоказаниями для назначения препаратов амантадина в 19,2, 7,7 и 13,5 % случаев соответственно. Пациенты с медленным или умеренным темпом прогрессирования заболевания принимали нелеводопосодержащие препараты в среднем  $2,6 \pm 0,6$  года, с быстрым прогрессированием болезни –  $0,8 \pm 0,4$  года. Анализ результатов суточного мониторирования артериального давления выявил высокую частоту «нон-дипперов» (86 %) и пациентов с ортостатической гипотензией (42,9 %).

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, пожилой возраст, стартовое лечение, ортостатическая гипотензия.

Стартовая заместительная терапия при болезни Паркинсона (БП) у лиц пожилого и старческого возраста нередко сопряжена с определенными соматическими ограничениями, связанными как с прогрессирующим нейродегенеративным процессом, так и с коморбидными заболеваниями. Инициальное лечение у лиц старше 70 лет предусматривает применение препаратов леводопы в виде монотерапии или в комбинации с агонистами дофаминовых рецепторов (АДР), амантадинами, ингибиторами моноаминоксидазы [1]. Подобная тактика связана с предполагаемой небольшой продолжительностью жизни у этих пациентов в отличие от лиц, заболевших в молодом или среднем возрасте. Считается, что профилактика ожидаемых и неизбежных осложнений леводопотерапии у пожилых пациентов имеет небольшое значение. Тем не менее клинические наблюдения показывают, что в некоторых случаях поздний дебют БП сопряжен с относительно доброкачественным ее течением, хорошим ответом на

нелеводопосодержащие препараты в виде монотерапии, что позволяет отсрочить время начала приема препаратов леводопы. В то же время прогрессирующая периферическая симпатическая денервация, нарушения центральной вегетативной регуляции вызывают значительные колебания артериального давления (АД), что ограничивает использование нелеводопосодержащих средств у пожилых людей.

Ортостатическая гипотензия (ОГ), артериальная гипертензия (АГ), нарушения циркадного ритма АД могут усугублять тяжесть заболевания и увеличивать цереброваскулярный риск при БП. В отдельных исследованиях показано, что поражение белого вещества головного мозга микрососудистого генеза при БП ассоциируется с более ранним развитием деменции [2, 4], акинетико-ригидной формой заболевания [6], ранними постуральными нарушениями [3]. Для рационального выбора противопаркинсонического препарата для стартовой терапии в пожилом возрасте необ-

ходима комплексная информация о соматическом состоянии пациента, его коморбидных заболеваниях, предполагаемом характере течения БП.

Цель исследования – изучить факторы, ограничивающие стартовую терапию нелеводопосодержащими противопаркинсоническими препаратами (АДР, ингибиторы моноаминоксидазы, препараты амантадина) в пожилом возрасте, оценить длительность их применения в форме монотерапии в зависимости от типа прогрессирования болезни Паркинсона.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное 4-летнее исследование 52 пациентов с дебютом БП (1,5–2 стадия по Хену и Яру) в возрасте 65 лет и старше (средний возраст  $71,8 \pm 4,3$  года). Диагноз устанавливали согласно МКБ-10. Диагноз БП верифицировали в соответствии с международными клинико-диагностическими критериями Банка головного мозга Общества болезни Паркинсона Великобритании. Степень тяжести БП определяли с помощью Унифицированной рейтинговой шкалы оценки проявлений БП (Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS). Стадию заболевания оценивали по шкале Хена и Яра.

Анализ когнитивных нарушений проводился с использованием критериев Н.Н. Яхно, МКБ-10 и модифицированных критериев R. Petersen [8]. Нейропсихологическое исследование включало применение шкалы краткого исследования психического статуса (Mini-Mental State Examination, MMSE), батареи тестов исследования лобных функций (Frontal Assessment Battery, FAB), теста рисования часов (Clock Drawing Test, CDT), оценки вербальных ассоциаций (литеральных и категориальных). Аффективные нарушения изучали с помощью госпитальной шкалы оценки тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS). Наличие ОГ оценивали по результатам

ортостатической пробы (тест Шеллонга). 42 пациентам было проведено суточное мониторирование АД (СМАД). Использовался аппарат «BPLab-2» (МЕДТЕХ, Москва), с основным осциллометрическим методом, интервалом между измерениями 30 минут днем и 60 минут ночью.

Обследование пациентов осуществлялось после подписания ими добровольного информированного согласия согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, регламентирующей проведение научных исследований. Данное исследование было рассмотрено и одобрено этическим комитетом Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования (протокол заседания № 3 от 21.06.2012).

Фактические данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ). Для независимых групп оценка статистической значимости различий средних величин проводилась с помощью параметрического  $t$ -теста Стьюдента (при нормальном распределении), непараметрических критериев Манна – Уитни и  $\chi^2$ . Для зависимых групп использовались  $t$ -тест Стьюдента для связанных выборок и критерий Вилкоксона. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ инициальной заместительной терапии показал, что более половины (61,5 %) пациентов с дебютом БП в пожилом возрасте имели ограничения к назначению нелеводопосодержащих препаратов в виде стартовой монотерапии (таблица). Наиболее частым относительным противопоказанием к применению АДР была ОГ, выявляемая в 23 % случаев при проведении ортостатической пробы. При этом лишь в 3,9 % наблюдений ОГ клинически проявлялась в форме синкопальных

Таблица

Частота ограничений к назначению нелеводопосодержащих препаратов при стартовой терапии у пожилых пациентов с болезнью Паркинсона

Наименование ограничения или противопоказания	Препарат, назначение которого ограничено	Частота ограничения или противопоказания, %
Ортостатическая гипотензия	Агонисты дофаминовых рецепторов	23,1
ИБС с хронической сердечной недостаточностью 2 стадии и выше	Пирибедил, препараты амантадина	17,3
Прием гидрохлортиазида	Препараты амантадина	19,2
Закрытоугольная глаукома	Агонисты дофаминовых рецепторов, препараты амантадина	7,7
Гиперплазия или аденома предстательной железы	Препараты амантадина	13,5

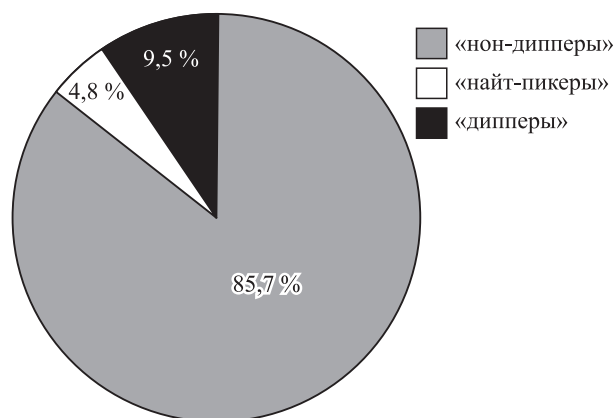


Рис. 1. Распределение пациентов с болезнью Паркинсона по степени снижения ночного артериального давления

состояний. Ишемическая болезнь сердца с хронической сердечной недостаточностью 2 стадии исключала возможность назначения пирибедила и препаратов амантадинов в полной терапевтической дозе в 17,3 % случаев. Прием гидрохлортиазида, наличие закрытоугольной глаукомы и гиперплазии или аденомы предстательной железы являлись противопоказаниями для назначения препаратов амантадина в 19,2, 7,7 и 13,5 % случаев соответственно.

Анализ результатов проспективного наблюдения показал, что пациенты с медленным или средним темпом прогрессирования заболевания (67,3 %) удовлетворительно отвечали на монотерапию АДР или их комбинацию с препаратами амантадина в течение  $2,6 \pm 0,6$  года. Длительность БП у этих больных без постуральных нарушений составила  $3,7 \pm 0,3$  года. При быстром прогрессировании БП (32,7 %) длительность заместительной терапии без препаратов леводопы составила  $0,8 \pm 0,4$  года. У этой группы пациентов отмечалось более быстрое развитие постуральных нарушений (через  $1,8 \pm 0,5$  года). Учитывая, что ОГ была наиболее частой причиной ограничения применения нелеводопосодержащих препаратов, 42 пациентам было проведено СМАД в течение первого года после выявления БП. Систолическое АД днем было  $131,4 \pm 10,2$ , диастолическое –  $78,7 \pm 7,3$  мм рт. ст. ОГ наблюдалась у 42,9 % обследованных, при этом у трети пациентов она была бессимптомной. У 52,2 % больных с АГ, регулярно принимавших антигипертензивные препараты, зарегистрированы эпизоды повышения АД в дневные часы, что потребовало пересмотра базисной терапии.

Анализ результатов СМАД в ночные часы выявил высокую частоту «нон-дипперов» (сни-

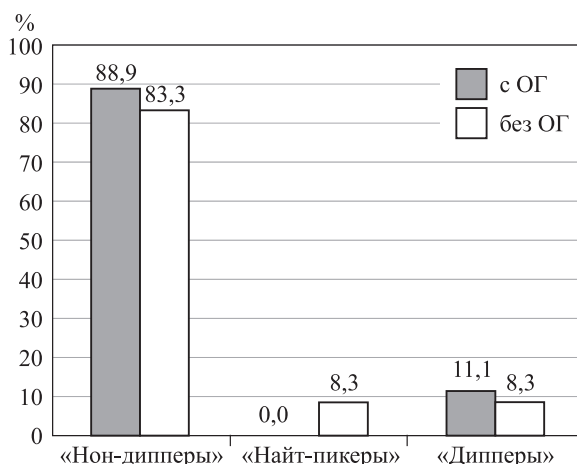


Рис. 2. Частота различных типов изменения ночного артериального давления у пациентов с ОГ и без нее, %

жение ночного систолического АД менее 10 %) среди исследуемых пациентов – 86 % случаев (рис. 1). Двое пациентов (4,8 %) были «найт-пикерами». Лишь в 9,5 % наблюдений отмечалось нормальное физиологическое снижение АД в интервале от 10 до 20 % («дипперы»). Среднее систолическое АД ночью было  $130,6 \pm 14,1$ , диастолическое –  $76,2 \pm 8,4$  мм рт.ст. «Нон-дипперы» статистически значительно чаще встречались среди пациентов с АГ, чем без нее (100 и 68 % соответственно). Анализ результатов не выявил корреляции между уровнем ночного АД и возрастом, формой и длительностью БП. Наличие ОГ также не влияло на частоту изменений ночного АД ( $p > 0,05$ ) (рис. 2). «Найт-пикеры» не имели проявлений ОГ в дневное время. У пациентов с ОГ систолическое и диастолическое АД в ночное время ( $138 \pm 5$  и  $78 \pm 3$  мм рт. ст. соответственно) было выше, чем в дневное ( $124 \pm 3$  и  $73 \pm 2$  мм рт. ст. соответственно) ( $p < 0,05$ ).

Характерная для БП гиперчувствительность сосудистых  $\alpha$ -адренорецепторов, развивающаяся на фоне прогрессирующей симпатической денервации, может способствовать вазоконстрикции при горизонтальном положении пациентов как в ночное, так и в дневное время (supine hypertension). Поэтому для пациентов с БП характерно повышение АД в горизонтальном положении. АГ в горизонтальном положении при проведении теста Шеллонга наблюдалась у 23,8 % пациентов, при этом во всех случаях у этих лиц ночное АД выходило за рамки физиологической нормы. 80 % лиц с АГ в горизонтальном положении были «нон-дипперами», остальные – «найт-пикерами». Пациенты с нормальным физиологическим ночным снижением АД не имели АГ в горизонтальном положении.

Таким образом, в нашем исследовании пациенты с БП демонстрировали значительную патологическую вариабельность АД как в дневные, так и в ночные часы. Полученные результаты соответствуют данным других исследователей. Изучение АД у пациентов с БП выявило высокую частоту ОГ (30–40 %) [9, 12], постпрандиальной гипотензии [7] и ночной гипертензии [9, 10, 12]. Патологический профиль ночного АД по данным СМАД встречается у более чем половины больных БП. Чаще всего как ночные, так и дневные патологические колебания АД протекают бессимптомно и остаются нераспознанными. Дефицит диагностики этих состояний является одной из наиболее важных практических проблем. Имеются свидетельства того, что патологические профили суточного АД (ОГ в дневные часы, ночная гипертензия, АГ в положении лежа) способны ускорять прогрессирование синуклеинопатий и негативно влиять на течение заболевания [5]. Так, в исследовании Е. Stuebner и соавторов обнаружено, что «нон-дипперы» с БП имеют более тяжелые психотические расстройства, чем пациенты с нормальным АД в ночные часы [11].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокая частота нарушений циркадного ритма АД у пациентов с БП в пожилом возрасте требуют обязательного включения СМАД в диагностический стандарт с целью оптимизации антигипертензивной, дофаминергической терапии и профилактики неблагоприятного течения заболевания, сердечно-сосудистых осложнений. Необходим индивидуальный подбор короткодействующих и пролонгированных противопаркинсонических и гипотензивных препаратов, особенно у пациентов с АГ и ОГ, ночной гипертензией. Назначение стартовой терапии пациентам пожилого возраста с БП требует более персонализированного подхода. Необходимо учитывать не только сопутствующие соматические заболевания, препараты базисной терапии, но и результаты СМАД. Целесообразно также проводить обязательный скрининг, включающий ортостатическую пробу, консультации кардиолога, уролога и измерение внутриглазного давления.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Левин О.С., Федорова Н.В. Болезнь Паркинсона. М.: МЕДпресс-информ, 2014. 384 с.
2. Bohnen N.I., Albin R.L. White matter lesions in Parkinson disease // *Nat. Rev. Neurol.* 2011. 7. (4). 229–236.
3. Bohnen N.I., Muller M.L., Zarzhevsky N., Koeppel R.A., Bogan C.W., Kilbourn M.R., Frey K.A., Albin R.L. Leucoaraiosis, nigrostriatal denervation and motor symptoms in Parkinson's disease // *Brain.* 2011. 134. (Pt. 8). 2358–2365.
4. Choi S.A., Evidente V.G., Caviness J.N., Shill H.A., Sabbagh M.N., Connor D.J., Hentz J.G., Adler C.H., Beach T.G. Are there differences in cerebral white matter lesion burdens between Parkinson's disease patients with or without dementia? // *Acta Neuropathol.* 2010. 119. (1). 147–149.
5. Fanciulli A., Strano S., Ndayisaba J.P., Goebel G., Gioffre L., Rizzo M., Colosimo C., Caltagirone C., Poewe W., Wenning G.K., Pontieri F.E. Detecting nocturnal hypertension in Parkinson's disease and multiple system atrophy: proposal of a decision-support algorithm // *J. Neurol.* 2014. 261. (7). 1291–1299.
6. Lee S.J., Kim J.S., Lee K.S., An J.Y., Kim W., Kim Y.I., Kim B.S., Jung S.L. The severity of leucoaraiosis correlates with the clinical phenotype of Parkinson's disease // *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2009. 49. (2). 255–259.
7. Luciano G.L., Brennan M.J., Rothberg M.B. Postprandial hypotension // *Am. J. Med.* 2010. 123. (3). 281.e1–281.e6.
8. Petersen R.C., Smith G.E., Waring S.C., Ivnik R.J., Tangalos E.G., Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome // *Arch. Neurol.* 1999. 56. (3). 303–308.
9. Sharabi Y., Goldstein D.S. Mechanisms of orthostatic hypotension and supine hypertension in Parkinson disease // *J. Neurol. Sci.* 2011. 310. 123–128.
10. Sommer S., Aral-Becher B., Jost W. Nondipping in Parkinson's disease // *Parkinsons Dis.* 2011. 2011. ID 897586.
11. Stuebner E., Vichayanrat E., Low D.A., Mathias C.J., Isenmann S., Haensch C.A. Non-dipping nocturnal blood pressure and psychosis parameters in Parkinson disease // *Clin. Auton. Res.* 2015. 25. (2). 109–116.
12. Ziemssen T., Reichmann H. Cardiovascular autonomic dysfunction in Parkinson's disease // *J. Neurol. Sci.* 2010. 289. (1–2). 74–80.

## PROBLEMS OF INITIAL THERAPY IN PARKINSON'S DISEASE IN THE ELDERLY

Svetlana Borisovna SAYUTINA, Vladimir Viktorovich SHPRAKH

*Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of Minzdrav of Russia  
664049, Irkutsk, microdistrict Yubileyny, 100*

---

The purpose of research – to study the factors limiting initial treatment with non-levodopa antiparkinsonian drugs in the elderly and to estimate the duration of their use depending on progression type of Parkinson's disease. **Material and methods.** A prospective 4-year study of 52 patients with the onset of Parkinson's disease (stage 1.5–2 according Hoehn and Yahr scale) aged 65 years and older (mean age  $71.8 \pm 4.3$  years) has been carried out. 42 patients underwent the 24-hour blood pressure monitoring. **Results and discussion.** It has been revealed that 61.5 % of patients with the onset of Parkinson's disease in the elderly had limitations on the non-levodopa drugs prescribing in the form of starting monotherapy. Orthostatic hypotension limited the use of dopamine receptor agonists in 23 % of cases. Ischemic heart disease with chronic second degree cardiac insufficiency ruled out the possibility of piribedil and amantadine preparations prescribing in 17.3 % of patients. The hydrochlorothiazide administration, the presence of closed-angle glaucoma and prostate hyperplasia/adenoma were contraindications for the administration of amantadine preparations in 19.2 %, 7.7 % and 13.5 % of cases, respectively. Patients with slow or moderate rate of disease progression took non-levodopa drugs on average  $2.6 \pm 0.6$  years, with rapid disease progression –  $0.8 \pm 0.4$  years. Analysis of the results of daily arterial pressure monitoring revealed the high incidence of «non-dippers» (86 %) and patients with orthostatic hypotension (42.9 %).

---

**Key words:** Parkinson's disease, elderly age, starting treatment, orthostatic hypotension.

*Sayutina S.B. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair for neurology and neurosurgery,  
e-mail: ain2000@rambler.ru*

*Shprakh V.V. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for neurology and neurosurgery,  
e-mail: irkmapo@irk.ru*

## УРОВЕНЬ ЦИНКА И ЕГО ФРАКЦИЙ КАК КОМПОНЕНТ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ У КУРЯЩИХ ЛИЦ

Вероника Ивановна ШЕВЦОВА, Анна Александровна ЗУЙКОВА

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко Минздрава России  
394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10

Курение – основной фактор риска развития обструктивных изменений в дыхательных путях, которые патофизиологически обеспечиваются цинксодержащими ферментами. Цель работы – исследовать общее содержание цинка, а также его пулов, связанного и свободного, у лиц с различным статусом курения, а также нормальной и сниженной функцией внешнего дыхания. **Материал и методы.** В ходе исследования типа «случай–контроль» были обследованы 30 пациентов с верифицированным диагнозом «хроническая обструктивная болезнь легких» и 90 здоровых лиц. При спирометрии определялся объем форсированного выдоха за первую секунду маневра форсированного выдоха (ОФВ<sub>1</sub>) с последующим расчетом величины ОФВ<sub>1</sub> в процентах от должного, а также уровни цинка и его фракций. Введен показатель «доля связанной фракции цинка» для верификации участия цинка в патофизиологических реакциях с участием цинксодержащих ферментов. **Результаты.** Выявлено уменьшение общего уровня цинка у курящих со сниженной функцией внешнего дыхания, а также значимое повышение показателя «доля связанной фракции цинка» по сравнению с другими группами. **Заключение.** Полученные результаты позволяют использовать уровень цинка и его фракций в качестве диагностического критерия при ранней диагностике хронической обструктивной болезни легких.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких, скрининг, микроэлементы, цинк, курение.

Рабочая группа GOLD, выпустив в 2017 г. новые рекомендации по диагностике и ведению пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), сфокусировала внимание на факторах риска развития этого заболевания, изменив дефиницию нозологии [7]. Известно, что в абсолютном большинстве случаев основой для развития обструктивных изменений в дыхательных путях является табакокурение [3]. Высокая распространенность курения определяет возрастающие показатели заболеваемости и распространенности ХОБЛ [1, 4]. Доказано наличие изменений, характерных для больных ХОБЛ, в дыхательных путях курильщиков [5]. Этот факт делает актуальным обследование этой группы населения с целью ранней диагностики заболевания.

Микроэлементы играют важную роль в патогенетических процессах, сопровождающих все нозологии. Цинк является эссенциальным микроэлементом, который обеспечивает основные биологические процессы на разных уровнях организации материи, начиная с генного и молекулярного. Интересна роль цинка в патофизиологии ХОБЛ ввиду того, что этот микроэлемент входит

в состав некоторых ферментов, играющих ключевую роль в развитии заболевания (матриксных металлопротеиназ) [2].

Известно, что цинк в плазме крови представлен двумя пулами – лабильным и связанным. Пул связанного цинка представляет собой комплекс цинка с высокомолекулярными соединениями плазмы. Метаболически активный цинк составляет две трети связанного цинка, транспортером его является альбумин. Оставшаяся треть плотно связана с  $\alpha$ 2-макроглобулином и метаболически неактивна [6].

Целью данного исследования явилось определение содержания цинка, пулов связанного и свободного цинка у больных ХОБЛ, а также курящих и некурящих людей с целью верификации роли цинка в патофизиологии ХОБЛ.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики,

*Шевцова В.И.* – ассистент кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики,  
e-mail: shevVI17@yandex.ru

*Зуйкова А.А.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой поликлинической терапии и общей врачебной практики

Воронежской городской клинической больницы скорой медицинской помощи № 8, ООО «Медицинский центр профессиональной патологии». Проводилось наблюдательное исследование типа «случай – контроль», в ходе которого после заполнения информированного согласия были обследованы 30 пациентов с установленным диагнозом ХОБЛ, без сопутствующей патологии, 20 мужчин и 10 женщин (средний возраст  $55,8 \pm 6,78$  года), госпитализированных в декабре 2015 – январе 2017 г., а также 90 здоровых людей, прошедших профилактический медицинский осмотр, 48 мужчин и 42 женщины (средний возраст  $43,7 \pm 7,17$  года). Разделение исследуемых на группы проводилось на основе результатов анкетирования и спирометрии. Данные спирометрии пациентов с верифицированным диагнозом ХОБЛ получены с использованием спирометра «Диамант».

Здоровые пациенты заполняли специально разработанную анкету для определения статуса курения. Далее активные курильщики вносили данные о количестве ежедневно выкуриваемых сигарет и продолжительности курения для расчета индекса курильщика. Те, кто в настоящее время не курил, отвечали на вопросы о курении в прошлом, а также о факте пассивного курения на улице, работе или дома. Также запрашивалось наличие хронической патологии (имеющие хронические заболевания исключались из исследования для верификации влияния курения на определяемые параметры). Функцию внешнего дыхания оценивали с помощью портативного спирометра Спиротест УСПЦ-1 (производства Россия) с определением объема форсированного выдоха за первую секунду маневра форсированного выдоха (ОФВ<sub>1</sub>) и последующим расчетом величины ОФВ<sub>1</sub> в процентах от должного.

Общее содержание цинка в сыворотке крови измеряли калориметрическим методом на анализаторе Clima MC-15 (RAL, Испания) с использованием наборов АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (г. Санкт-Петербург) по инструкции производителя; при измерении содержания связанного цинка белки осаждали трихлоруксусной кислотой.

Статистическая обработка данных производилась с использованием Н-критерия Краскела – Уоллиса, различия между группами считали достоверными при  $p < 0,05$ . Также был использован корреляционный анализ Спирмена с расчетом коэффициента ранговой корреляции ( $r$ ). Результаты представляли в виде  $M \pm m$  и  $M \pm \sigma$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего,  $\sigma$  – среднеквадратическое отклонение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После анализа анкетных данных и результатов спирометрии (табл. 1) все исследуемые были разделены на 4 группы: 1 – курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ ( $n = 35$ , средний возраст  $55,8 \pm 6,78$  года), 2 – курящие с минимальными нарушениями функции внешнего дыхания (ФВД) (ОФВ<sub>1</sub> в процентах от должного в пределах от 80 до 70 %) ( $n = 25$ , средний возраст  $45,6 \pm 5,79$  года), 3 – курящие с сохранной ФВД ( $n = 30$ , средний возраст  $41,8 \pm 7,97$  года), 4 – курящие пассивно ( $n = 30$ , средний возраст  $42,4 \pm 9,31$  года). При проведении профилактического медицинского осмотра у 5 курящих пациентов, предъявляющих жалобы на кашель, выявлено снижение показателя ОФВ<sub>1</sub> в процентах от должного менее 70 %. Ввиду этого данные пациенты были отнесены к группе 1 (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ).

На следующем этапе исследования был измерен и проанализирован общий уровень цинка в сыворотке крови, а также концентрация свободной и связанной фракции цинка с определением доли связанного цинка в процентах (табл. 2). Необходимо отметить, что общее содержание цинка в сыворотке крови ряда лиц первой группы (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ) было меньше нормальных значений ( $16,6 \pm 6,2$  мкМ), у остальных исследуемых соответствовало референтным значениям. При этом общий уровень цинка снижается в ряду: курящие пассивно – курящие с сохранной ФВД – курящие с нарушением ФВД – курящие с ХОБЛ ( $N = 92,322$ ,  $p = 0,01$ ); аналогичным образом изменяется содержание микроэлемента в пулах связанного ( $N = 90,355$ ,  $p = 0,01$ ) и свободного ( $N = 99,748$ ,  $p = 0,01$ ) цин-

Таблица 1

Результаты спирометрии лиц, принявших участие в исследовании,  $M \pm m$

Группа	ОФВ <sub>1</sub> , л	ОФВ <sub>1</sub> , % от должного
1-я группа (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ)	$1,68 \pm 0,61$	$48,6 \pm 10,5$
2-я группа (курящие с минимальными нарушениями ФВД)	$2,99 \pm 0,45$	$74,3 \pm 3,0$
3-я группа (курящие с сохранной ФВД)	$3,01 \pm 0,63$	$84,8 \pm 3,6$
4-я группа (курящие пассивно)	$2,85 \pm 0,57$	$88,2 \pm 3,1$



Таблица 2

Содержание цинка, его фракций и доля связанного цинка в крови пациентов,  $M \pm \sigma$ 

Группа	1-я группа (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ)	2-я группа (курящие с минимальными нарушениями ФВД)	3-я группа (курящие с сохранной ФВД)	4-я группа (курящие пассивно)
Содержание цинка, мкМ	11,60 ± 2,62	15,54 ± 1,52	17,50 ± 2,54	22,49 ± 2,17*
Содержание связанной фракции цинка, мкМ	10,73 ± 2,35	14,14 ± 1,37	15,65 ± 2,14	19,74 ± 1,63*
Содержание свободной фракции цинка, мкМ	0,87 ± 0,28	1,40 ± 0,15	1,86 ± 0,46	2,75 ± 0,56*
Доля связанного цинка, %	92,6 ± 0,7	91,0 ± 0,2	89,5 ± 1,2	87,9 ± 1,3*

Примечание. \* – различия между группами статистически значимы при  $p < 0,01$ .

ка (см. табл. 2). Таким образом, можно говорить о том, что общий уровень цинка и концентрация его связанной и активной фракций у активно курящих пациентов (группы 1, 2, 3) значимо ниже, чем у курящих пассивно, что подтверждает данные о влиянии табачного дыма на общее содержание цинка в сыворотке крови.

Ввиду значимости цинксодержащих ферментов в патогенезе ХОБЛ на следующем этапе работы была проанализирована доля связанного цинка в сыворотке крови. Метаболически активный цинк, который может быть использован для синтеза достаточного количества ферментов – это часть связанного пула, транспортируемая альбумином. Выявлены значимые различия в доле связанной фракции цинка у лиц из различных групп исследования ( $N = 104,523$  при  $p = 0,01$ ) (см. табл. 2). В группе 1 (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ разных стадий) были отмечены максимальные значения доли связанной фракции цинка. Также доля связанного цинка в группе 2 (курящие с минимальными нарушениями ФВД) больше, чем в группе 3 (курящие с сохранной ФВД) ( $p = 0,01$ ), а минимальные значения – у исследуемых лиц в четвертой группе.

На наш взгляд, выявленные закономерности связаны с высокой потребностью в цинке для синтеза ферментов, которые обеспечивают патогенетические реакции, приводящие к формированию обструкции дыхательных путей у пациентов с диагностированной и формирующейся ХОБЛ.

С целью выявления зависимости общего уровня цинка в сыворотке и процентного содержания связанного цинка от ОФВ<sub>1</sub> в процентах от должного был выполнен корреляционный анализ Спирмена (рисунок).

Получены следующие корреляционные уравнения, во всех случаях обнаружена тесная корреляционная связь:

$$\text{ОФВ}_1 \% = 18,8132 + 3,2545 \times \text{Zn}_{\text{общий}} \\ (r = 0,86, p = 0,01),$$

$$\text{ОФВ}_1 \% = 14,5809 + 3,9082 \times \text{Zn}_{\text{связанный}} \\ (r = 0,86, p = 0,01),$$

$$\text{ОФВ}_1 \% = 42,1127 + 18,1412 \times \text{Zn}_{\text{свободный}} \\ (r = 0,83, p = 0,01),$$

$$\text{ОФВ}_1 \% = 755,6442 - \\ - 755,9448 \times (\text{Zn}_{\text{связанный}} / \text{Zn}_{\text{общий}}) \times 100 \% \\ (r = -0,89, p = 0,01),$$

где ОФВ<sub>1</sub> % – ОФВ<sub>1</sub> в процентах от должного; Zn<sub>общий</sub> – общий уровень цинка в сыворотке крови; Zn<sub>связанный</sub> – концентрация связанной фракции цинка в сыворотке крови; Zn<sub>свободный</sub> – концентрация свободной фракции цинка в сыворотке крови.

Таким образом, уровень цинка, а особенно его связанной фракции, отражает патогенетические реакции организма при формировании ХОБЛ, что делает возможным использование описанных показателей в качестве диагностических критериев при скрининговой диагностике ХОБЛ.

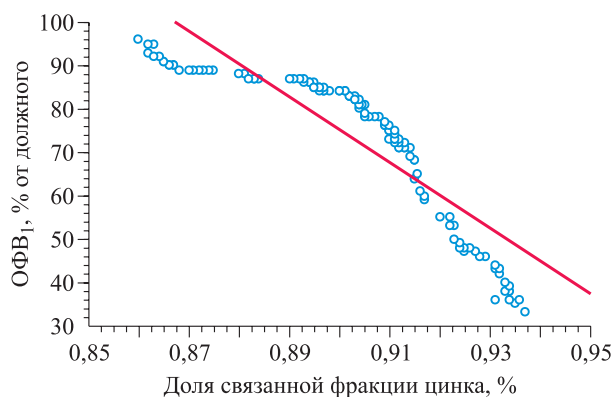


Рис. Диаграмма рассеяния для ОФВ<sub>1</sub> в процентах от должного и доли связанной фракции цинка

## ВЫВОДЫ

1. Общий уровень цинка, а также содержание его связанной и свободной фракций в сыворотке крови снижается в ряду: курящие пассивно – курящие с сохранной ФВД – курящие с нарушением ФВД – курящие с ХОБЛ

2. Изменения доли связанной фракции цинка предшествуют уменьшению показателей спирометрии ниже пороговых значений, что делает этот показатель диагностически значимым.

3. При использовании корреляционного анализа Спирмена получены корреляционные уравнения, с высокой степенью достоверности ( $r > 0,85$ ,  $p < 0,01$ ) отражающие зависимость процентного содержания связанного цинка от величины  $ОФВ_1$  в процентах от должного, что делает возможным использовать первый показатель в качестве диагностического критерия при ранней диагностике ХОБЛ у курящих лиц.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глобальный опрос взрослого населения о потреблении табака. Российская Федерация: Страновой отчет. М., 2009. 172 с.

2. Невзорова В.А., Тилик Т.В., Гулифанов Е.А., Панченко Е.А., Вахрушева С.Е., Тилик В.В. Роль ма-

триксных металлопротеиназ в формировании морфофункционального дисбаланса воздухоносных путей при хронической обструктивной болезни легких // Тихоокеан. мед. журн. 2011. (2). 9–13.

3. Похазникова М.А., Кузнецова О.Ю., Лебедев А.К. Распространенность курения как фактора риска хронической обструктивной болезни легких в Санкт-Петербурге // Рос. семейн. врач. 2014. 4. (18). 24–32.

4. Стародубов В.И., Леонов С.А., Вайсман Д.Ш. Анализ основных тенденций изменения заболеваемости населения хроническими обструктивными болезнями легких и бронхоэктатической болезнью в Российской Федерации в 2005–2012 годах // Медицина. 2013. (4). 1–3.

5. Черногорюк Г.Э., Михайлова А.А., Санжаровская М.С., Ямкина Н.С., Акбашева О.Е., Варьянская Н.В., Климентьева Т.К., Рослякова Е.П., Фисенко А.Ю. Факторы устойчивости части «злостных» курильщиков к развитию хронической обструктивной болезни легких // Современ. пробл. науки и образования. 2013. (1). <https://elibrary.ru/item.asp?id=18829028>

6. Шейбак В.М. Транспортная функция сывороточного альбумина: цинк и жирные кислоты // Вестн. ВГМУ. 2015. 14. (2). 16–22

7. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD 2017.

## ZINC AND ITS FRACTIONS LEVEL AS AN EARLY DIAGNOSTICS COMPONENT OF THE CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE AT SMOKERS

Veronika Ivanovna SHEVTSOVA, Anna Aleksandrovna ZUYKOVA

Voronezh State Medical University n.a. N.N. Burdenko of Minzdrav of Russia  
394036, Voronezh, Studencheskaya str., 10

Smoking is the main risk factor of respiratory tracts obstructive alterations pathophysiologically supported by zinc-containing enzymes. The aim of research was to investigate the zinc total content as well as its combined and free pools in persons with various smoking status and also with the normal and reduced function of external breath. **Materials and methods.** 30 patients with the verified diagnosis «chronic obstructive lung disease» and 90 healthy people have been examined in research of «event–control» type. The volume of forced expiration for the first second of the forced expiration action ( $VFE_1$ ) with the following estimation  $VFE_1$  index in percents of the norm as well as zinc and its fractions levels have been determined in spirometry The «combined zinc fraction ratio» indicator has been introduced to verify zinc participation in pathophysiological reactions with zinc containing enzymes. **Results.** Decrease in total zinc level in smokers with external breath reduced function as well as the significant increase in «combined zinc fraction ratio» indicator have been revealed in comparison with other groups. **Conclusion.** The received data allow using the zinc and its fractions level as the diagnostic criterion for early diagnosis of chronic obstructive lung disease.

**Key words:** chronic obstructive lung disease, screening, trace elements, zinc, smoking.

Shevtsova V.I. – assistant of the chair for polyclinic therapy and general medical practice,  
e-mail: shevVII7@yandex.ru

Zuykova A.A. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for polyclinic therapy  
and general medical practice

## ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ДЕФОРМИРУЮЩИМ ОСТЕОАРТРОЗОМ КОЛЕННОГО СУСТАВА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕЛИЧИНЫ ДЕФЕКТА ВНУТРЕННЕГО МЫШЦЕЛКА БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ

Марина Владимировна ЧЕПЕЛЕВА, Елена Ивановна КУЗНЕЦОВА,  
Олег Константинович ЧЕГУРОВ

*Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия»  
им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России  
640014, г. Курган, ул. Марии Ульяновой, 6*

В работе представлены данные по изучению особенностей врожденного иммунитета у 70 пациентов с деформирующим остеоартрозом коленного сустава III стадии в зависимости от величины дефекта внутреннего мыщелка большеберцовой кости. Определение CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>HLA-DR осуществлялось методом проточной цитометрии. Метаболическую активность нейтрофилов оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) методом световой микроскопии. Подсчет количества лейкоцитов, моноцитов, нейтрофилов проводился на гематологическом анализаторе. В группе с остеоартрозом без дефекта мыщелка выявлено повышение стимулированного НСТ-теста и уровня сывороточного ИЛ-8. В группе с минимальным дефектом отмечалось увеличение метаболического потенциала как покоящихся, так и активированных нейтрофилов, повышение абсолютного числа моноцитов. В группе с дефектом 50–70 % площади мыщелка, глубиной 6–10 мм дополнительно снижалась экспрессия HLA-DR на моноцитах периферической крови и увеличивалось содержание НК-клеток в синовиальной жидкости. Наиболее выраженные изменения со стороны исследуемых показателей отмечались в группе с дефектами более 70 % одного мыщелка, глубиной более 10 мм. Полученные данные свидетельствуют о важной роли иммуновоспалительного компонента в патогенезе остеоартроза и демонстрируют зависимость исследуемых показателей врожденного иммунитета от величины дефекта внутреннего мыщелка.

**Ключевые слова:** остеоартроз, врожденный иммунитет, дефект мыщелка.

Остеоартроз является самым распространенным заболеванием опорно-двигательного аппарата и встречается у трети пациентов в возрасте от 45 до 64 лет и у 60–70 % пациентов старше 65 лет. За последние десятилетия первичная заболеваемость остеоартрозом в РФ выросла на 20 %, а общая распространенность – на 48 % [8]. Социальная значимость остеоартроза определяется связанным с ним высоким уровнем потери трудоспособности и существенным снижением качества жизни пациентов за счет ограничения подвижности и выраженности сопутствующего болевого синдрома.

Патогенетические механизмы при остеоартрозе включают в себя метаболические сдвиги, воспалительные процессы, иммунные наруше-

ния [6]. С одной стороны, считается, что именно иммуновоспалительный компонент влечет за собой нарушения в обмене коллагена и развитие дегенеративного процесса в суставных тканях [12]. С другой стороны известно, что патологические иммунологические реакции при остеоартрозе приводят к усугублению тяжести анатомических нарушений и способствуют хронизации патологического процесса [3, 5, 9, 10]. Врожденный иммунитет является важной составляющей иммунного ответа при остеоартрозе, что доказано многочисленными исследованиями. Вместе с тем в современной литературе совершенно не освещен вопрос о зависимости показателей врожденного иммунитета от величины дефекта мыщелка большеберцовой кости у пациентов с гонартрозом.

*Чепелева М.В. – к.м.н., старший научный сотрудник научно-клинической лаборатории микробиологии и иммунологии, e-mail: Vladi\_2000@hotmail.ru*

*Кузнецова Е.И. – младший научный сотрудник научно-клинической лаборатории микробиологии и иммунологии, e-mail: citoz@mail.ru*

*Чегуров О.К. – д.м.н., зав. травматолого-ортопедическим отделением № 16, зав. лабораторией реконструктивного эндопротезирования и артроскопии*

Цель исследования – изучить показатели врожденного иммунитета у пациентов с деформирующим остеоартрозом коленного сустава в зависимости от величины дефекта внутреннего мыщелка большеберцовой кости.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал исследования составили периферическая кровь и синовиальная жидкость 70 женщин с деформирующим артрозом коленного сустава III стадии, средний возраст пациенток составил 53,9 года и находился в пределах 49–58 лет. Давность заболевания составила в среднем 11,0 года (от 8,5 до 15,9 лет). Оценку зоны дефекта мыщелка большеберцовой кости осуществляли посредством анализа рентгенограмм коленного сустава в двух проекциях (прямой и боковой). На основании величины дефекта нами были выделены 4 группы: в I группу вошли 24 пациентки с отсутствием дефекта внутреннего мыщелка, во II – 20 больных с минимальными дефектами (менее 50 % площади одного мыщелка, глубиной менее 5 мм), в III – 20 пациенток с умеренными дефектами (50–70 % площади мыщелка, глубиной 6–10 мм), IV группу составили 6 пациенток с протяженными дефектами (более 70 % одного мыщелка, глубиной более 10 мм). Все группы были сопоставимы по возрасту, полу, основной и сопутствующей патологии. В качестве контрольных использовались иммунологические показатели периферической крови 29 относительно здоровых добровольцев аналогичного возраста. В исследование не включались носители HCV, HIV, HBsAg, лица с сопутствующей соматической патологией, способной повлиять на результаты иммунологического исследования. Все обследованные дали информированное добровольное согласие на медицинское вмешательство и публикацию данных, полученных в результате исследования, без идентификации личности.

Содержание натуральных киллеров (CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) в периферической крови и синовиальной жидкости, экспрессию HLA-DR на моноцитах (CD14<sup>+</sup>HLA-DR) в периферической крови определяли методом лазерной проточной цитометрии с использованием «Beckman Coulter Epics XL» (Beckman Dickinson, США) и моноклональных антител компании «Immunitech» (Франция). Метаболическую активность нейтрофилов в периферической крови оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) с помощью световой микроскопии по методу В.Н. Park et al. [14] в двух вариантах: спонтанном и стимулированном. В качестве стимулятора использовали микробную тест-культуру

*Staphylococcus epidermidis* штамм № 9198, полученную из НИИ экспериментальной медицины (Санкт-Петербург). Количество лейкоцитов, моноцитов, нейтрофилов подсчитывали на гематологическом анализаторе ABX Pentra 60 (Horiba, Япония). Концентрацию IL-8 в периферической крови определяли иммуноферментным методом на анализаторе ELx808 (BioTek Instruments Inc., США) с использованием набора реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), кровь забирали натошак из локтевой вены в вакуутайнер. Забор синовиальной жидкости производили в стерильную пробирку во время первичного эндопротезирования коленного сустава.

Анализ результатов осуществляли посредством программного обеспечения AtteStat, выполненного как надстройка к «Microsoft Excel» программного продукта «Microsoft Office». Полученные данные обрабатывались с помощью методов непараметрической статистики, поскольку наблюдаемые признаки не подчинялись нормальному распределению, с использованием критериев Вилкоксона, Манна – Уитни. Результаты исследования представлены в виде медиан и интерквартильных размахов (25 и 75 процентиля).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание лейкоцитов у пациентов с отсутствием дефекта внутреннего мыщелка, а также с минимальными и умеренными дефектами не имело статистически значимых отличий от соответствующих величин контрольной группы. В случае наличия протяженного дефекта (группа IV) количество лейкоцитов было больше, чем у лиц контрольной группы, оставаясь при этом в пределах границ физиологической нормы (таблица).

По относительному содержанию моноцитов исследуемые группы статистически значимо не различались. Абсолютное число моноцитов в группах с дефектом мыщелка достоверно превышало значения группы с его отсутствием, а также значения контрольной группы. При этом зависимости данного показателя от величины дефекта не выявлено. Дополнительно нами было проведено изучение экспрессии моноцитами антигенов HLA-DR, роль которых заключается в представлении антигена Т-хелперам. Для локализации моноцитов применяли CD14, который представляет собой рецептор эндотоксина (липополисахарид, LPS). Статистически значимое снижение содержания клеток с фенотипом CD14<sup>+</sup>HLA-DR по сравнению со значениями контрольной группы обнаружено при наличии дефекта мыщелка более 50 % его площади, глубиной более 6 мм.

Таблица

Показатели врожденного иммунитета в периферической крови пациентов с остеоартрозом зависимости от величины дефекта внутреннего мыщелка большеберцовой кости

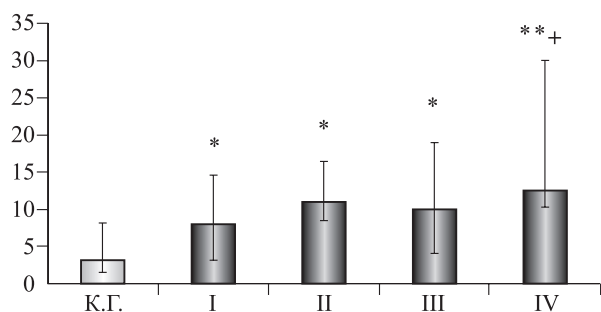
Показатель	Группа контроля	Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV
Содержание лейкоцитов, × 10 <sup>9</sup> /л	5,5 (5,0–6,4)	6,4 (4,5–7,0)	6,7 (5,8–7,9)	6,1 (4,7–6,9)	7,2*+ (6,7–8,0)
Содержание моноцитов, %	7,0 (6,0–8,0)	8,0 (7,0–10,0)	8,5 (7,0–9,0)	7,0 (6,5–9,0)	7,5 (7,0–8,0)
Содержание моноцитов, × 10 <sup>9</sup> /л	0,38 (0,3–0,47)	0,52 (0,3–0,62)	0,56* (0,42–0,71)	0,52* (0,37–0,62)	0,5* (0,4–0,6)
Содержание клеток CD14 <sup>+</sup> HLA-DR, %	88,6 (85,9–92,6)	86,0 (81,2–89,4)	85,4 (81,83–89,3)	85,3* (80,5–87,0)	84,6* (80,0–87,0)
Содержание клеток CD3 <sup>-</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> , %	11,5 (8,3–14,2)	12,6 (9,48–15,6)	15,0 (8,7–17,6)	10,9 (7,0–15,9)	14,0* (9,8–19,3)
Содержание клеток CD3 <sup>-</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /л	0,19 (0,14–0,27)	0,24 (0,13–0,32)	0,26 (0,16–0,35)	0,21 (0,1–0,31)	0,3*+ (0,2–0,42)
Содержание нейтрофилов, × 10 <sup>9</sup> /л	3,5 (2,9–4,3)	4,0 (2,83–4,25)	4,29 (3,13–5,36)	4,1 (3,3–5,1)	4,4*+ (3,7–5,0)
НСТ-тест спонтанный, %	5,5 4,3÷6,0	5,5 (4,0–6,75)	8,0*+ (5,25–10,75)	11,5***+ (7,5–14,75)	8,0*+ (6,25–9,0)
НСТ-тест стимулированный, %	57,0 48,0÷62,3	71* (63,5–75,25)	65,0* (59,5–81,5)	74,0* (60,5–82,25)	82,5***+ (80,0–85,0)

Примечание. Здесь и на рисунке обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей группы контроля (\* – при  $p < 0,05$ , \*\* – при  $p < 0,01$ ) и группы I (+ – при  $p < 0,05$ , ++ – при  $p < 0,01$ ).

Как известно, натуральные, или естественные, киллеры (NK-клетки) относятся к категории лимфоцитов врожденного иммунитета, эффекторные функции которых регулируются комплексом сигналов, полученных от их стимулирующих и ингибирующих рецепторов, а также от растворимых факторов. NK-клетки выделены в особый класс лимфоцитов благодаря уникальной способности быстро и без предварительной иммунизации лизировать чужеродные либо свои измененные клетки в отсутствие молекул главного комплекса гистосовместимости класса I (MHC-I – major histocompatibility complex class I), независимо от антител и комплемента. Один из аспектов иммунного распознавания, реализуемого NK-клетками, связан с их активацией в ответ на инфекцию, воспаление, клеточный стресс. Воспалительные процессы ведут к возрастанию количества NK-клеток. Один из аспектов иммунного распознавания, реализуемого NK-клетками, связан с их активацией в ответ на инфекцию, воспаление, клеточный стресс. Согласно данным литературных источников, наличие в синовиальной среде NK-клеток с фенотипом CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup>, экспрессирующих гранзим А, коррелирует с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов в синовиальной жидкости у пациентов с остеоартрозом, способствуя хронизации воспали-

тельного процесса в суставных тканях [12]. Еще одной, не менее важной функцией NK-клеток является секреция хемокинов и цитокинов, посредством продукции которых NK-клетки оказывают влияние на макрофаги, дендритные клетки и нейтрофилы, модулируя тем самым и последующий антигенспецифический ответ [1]. У пациентов с остеоартрозом обычно выявляется инфильтрация синовиальных мембран макрофагами, Т-клетками, тучными клетками, В-клетками, плазматическими клетками, дендритными клетками, гранулоцитами и естественными киллерами в том числе [13]. Имеется мнение, что при остеоартрозе именно NK-клетки являются основным подмножеством тканеинфильтрирующих лимфоцитов, составляя около 30 % клеточного пула инфильтрата [11].

Согласно полученным нами данным, относительное содержание NK-клеток в синовиальной жидкости больных остеоартрозом без дефекта мыщелка составляло 15,1 (12,0–18,0) %. При наличии дефекта размером 50–70 % площади мыщелка, глубиной 6–10 мм, количество NK-клеток повышалось до 19,0 (17,0–25,0)% ( $p < 0,05$ ). В периферической крови как относительное, так и абсолютное содержание NK-клеток увеличивалось при наличии выраженного дефекта мыщелка (более 70 % от его площади и глубиной более 10 мм).



**Рис.** Концентрация сывороточного IL-8 (пг/мл) у пациентов с остеоартрозом в зависимости от величины дефекта внутреннего мыщелка большеберцовой кости

Абсолютное содержание нейтрофилов в периферической крови у пациентов I, II, III групп не имело статистически значимых отличий от значений контрольной группы. В случае наличия выраженного дефекта мыщелка (группа IV) количество нейтрофилов превышало значения контрольной группы и группы с остеоартрозом без дефекта (группа I) (см. таблицу). Доказано повреждающее воздействие на окружающие ткани лизосомальных продуктов активированных нейтрофилов, которые сами являются эффекторами воспалительной реакции и от активности которых зависит исход воспалительного процесса [2, 4].

Важную роль в системе врожденного иммунитета играет IL-8 – индуцибельный белок, выступающий в качестве хемоаттрактанта для нейтрофилов и макрофагов. Помимо участия в создании градиента для хемотаксиса фагоцитирующих клеток, IL-8 усиливает адгезивные свойства нейтрофилов, изменяя экспрессию интегринов, стимулирует ангиогенез. Вышеперечисленные свойства определяют IL-8 как активного участника воспалительной реакции в местах проникновения патогена. Повышенный уровень IL-8 ассоциируется с хроническими и острыми воспалительными состояниями и с увеличением инфильтрации тканей фагоцитирующими клетками. Известно, что содержание данного хемокина коррелирует со стадией остеоартроза, активно возрастая на ранних стадиях, с последующим снижением по мере дальнейшего развития патологического процесса в суставных и околосуставных тканях [7].

При этом сведений о влиянии степени выраженности дефекта мыщелка на выработку IL-8 в современной литературе мы не встретили. Между тем результаты наших исследований продемонстрировали наличие такой зависимости. Согласно полученным данным, концентрация

сывороточного IL-8 у пациентов с III стадией остеоартроза как с наличием, так и с отсутствием дефекта медиального мыщелка достоверно больше, чем в контрольной группе. При этом содержание IL-8 у пациентов с выраженным дефектом мыщелка (группа IV) выше, чем у больных без дефекта (группа I), а также с минимальными и умеренными дефектами (группы II и III).

Как известно, окислительный стресс увеличивает выработку IL-8. Мы изучили показатели НСТ-теста у пациентов с различной степенью выраженности дефекта внутреннего мыщелка. В группах с дефектом мыщелка спонтанный НСТ-тест, отображающий метаболический потенциал покоящихся фагоцитирующих клеток, превышал значения контроля и I группы. Стимулированный НСТ-тест, отображающий метаболический потенциал активированных фагоцитов, во всех группах с дефектом был достоверно больше, чем в контрольной группе. Наиболее высокие значения его регистрировались в группе IV.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на актуальность проблемы, до настоящего времени не сложилось единого мнения о природе деформирующего остеоартроза, что даже в используемой терминологии находит свое отражение. В частности, в отечественной литературе общепринятым является термин «остеоартроз», в зарубежной – «остеоартрит». Длительное время деформирующий остеоартроз рассматривали как заболевание невоспалительного характера, связанное с дегенерацией хрящевой ткани, не способной к регенерации. Ведущим патогенетическим фактором в развитии остеоартроза и сейчас считается деструкция суставного хряща с последующей его потерей. Однако все большее количество исследователей придают большое значение патологическим изменениям в других структурах сустава – синовиальной оболочке, субхондральной кости и т.д., в том числе и воспалительного характера. Полученные нами данные также свидетельствуют о важной роли воспалительного компонента в патогенезе остеоартроза и демонстрируют зависимость исследуемых показателей врожденного иммунитета от величины дефекта внутреннего мыщелка. Наиболее выраженные изменения выявляются в группе с протяженными дефектами, что выражается в статистически значимом повышении абсолютного количества лейкоцитов, нейтрофилов, клеток с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, показателей НСТ-теста, уровня IL-8 и снижении экспрессии моноцитами антигенов HLA-DR.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленко Е.И. Основные свойства и функции пк-клеток человека // Иммунология. 2012. (4). 220–224.
2. Волокитина Е.А., Чепелева М.В. Лазерная проточная цитометрия в лабораторном иммунологическом мониторинге эндопротезирования коленного и тазобедренного суставов // Гений ортопедии. 2011. (3). 131–135.
3. Долгушин И.И., Савочкина А.Ю. Секреторные функции нейтрофилов // Аллергология и иммунология. 2015. 16. (2). 210–212.
4. Зурочка А.В., Чукичев О.Л., Колесников А.В. Роль нейтрофилов в регуляции иммунной реактивности и репаративных реакций поврежденной ткани // Вестн. РАМН. 2000. (2). 14–19.
5. Лунева С.Н., Матвеева Е.Л., Чепелева М.В., Гасанова А.Г., Спиркина Е.С. Взаимосвязь белкового спектра и иммуноглобулинов разных классов в синовиальной жидкости при гонартрозе // Клин. лаб. диагностика. 2010. (2). 21–23.
6. Матвеева Е.Л., Лунева С.Н. Исследование некоторых биохимических и клинических показателей гонартроза и их взаимосвязь // Успехи современ. естествознания. 2015. (3). 51–54.
7. Патрухин А.П., Кирьянова В.В., Прощаев К.И., Бессарабов В.И. Изменения в цитокиновой системе сыворотки крови пожилых пациентов, страдающих остеоартрозом // Фундам. исслед. 2014. (10-5). 951–954.
8. Фоломеева О.М., Эрдес Ш.Ф. Распространенность и социальная значимость ревматических заболеваний в Российской Федерации // Доктор (ревматология). 2007. (10). 3–12.
9. Чепелева М.В., Волокитина Е.А., Кармацких О.Л. Особенности иммунного статуса пациентов с дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава // Мед. иммунология. 2004. 6. (3-5). 40.
10. Чепелева М.В., Сазонова Н.В., Кузнецова Е.И. Концентрации иммуноглобулинов и цитокинов в синовиальной жидкости пациентов с остеоартрозом при наличии и отсутствии клинических признаков синовита // Сиб. науч. мед. журн. 2015. 35. (2). 69–73.
11. Huss R.S, Huddleston J.I., Goodman S.B., Butcher E.C., Zabel B.A. Synovial tissue-infiltrating natural killer cells in osteoarthritis and periprosthetic inflammation // Arthritis Rheum. 2010. 62. (12). 3799–3805.
12. Jaime P, Garcia-Guerrero N., Estella R., Pardo J, Garcia-Alvarez F, Martinez-Lostao L. CD56<sup>+</sup>/CD16<sup>-</sup> natural killer cells expressing the inflammatory protease granzyme A are enriched in synovial fluid from patients with osteoarthritis // Osteoarthritis Cartilage. 2017. 25. (10). 1708–1718.
13. Li Y.S., Luo W., Zhu S.A., Lei G.H. T cells in osteoarthritis: alterations and beyond // Front. Immunol. 2017. 8. ID 356.
14. Park B.H., Fikrig S.M., Smitwick E.M. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. A diagnostic acid // Lancet. 1968. 2. (7567). 532–534.

## **CONGENITAL IMMUNITY VALUES IN PATIENTS WITH KNEE DEFORMING OSTEOARTHRITIS DEPENDING ON THE SIZE OF TIBIAL MEDIAL CONDYLE**

**Marina Vladimirovna CHEPELEVA, Elena Ivanovna KUZNETSOVA,  
Oleg Konstantinovich CHEGUROV**

*Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics» of Minzdrav of Russia  
640014, Kurgan, Mariya Ul'yanova str., 6*

---

The data of study on congenital immunity features in 70 patients with stage III of knee deforming osteoarthritis depending on the tibia medial condyle size have been presented. CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>HLA-DR were measured by the flow cytometry technique. Metabolic activity of neutrophils was evaluated by the reaction of nitroblue tetrazolium reduction using the light microscopy method. Leukocytes, monocytes, neutrophils were counted with a hematologic analyzer. The increase in stimulation HCT-test and serum IL-8 level were revealed in the group with osteoarthritis without condyle defect. The increase in metabolic potential of both resting and activated neutrophils and monocyte absolute number were registered in the group with minimal defect. HLA-DR expression on peripheral blood monocytes was additionally decreased and NK-cells content in synovial fluid was increased in the group with the defect of 50–70 % condyle area of 6–10-mm depth. The most marked changes in the studied values were revealed in the group with the defect of >70 % of single condyle of >10-mm depth. The obtained data testify to the important role of the immune-inflammatory component in osteoarthritis pathogenesis and they demonstrate the dependence of congenital immunity values on the size of medial condyle defect.

---

**Key words:** osteoarthritis, congenital immunity, condyle defect.

*Chepeleva M.V. – candidate of medical sciences, senior researcher of clinical laboratory of microbiology and immunology, e-mail: Vladi\_2000@hotmail.ru*

*Kuznetsova E.I. – junior researcher of clinical laboratory of microbiology and immunology, e-mail: citoz@mail.ru*

*Chegurov O.K. – doctor of medical sciences, head of department of traumatology and orthopedics, head of the laboratory of reconstructive arthroplasty and arthroscopy*



## НЕКОТОРЫЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Ксения Ивановна СУРСЯКОВА, Татьяна Викторовна САФЬЯНОВА

Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России  
656038, г. Барнаул, просп. Ленина, 40

Представлены современные данные отечественной и зарубежной литературы по инфекциям мочевых путей. Авторами раскрыты эпидемиологические, этиологические аспекты данных инфекций, механизмы формирования внутригоспитальных штаммов, связанных с антибиотикорезистентностью, а также современные методы профилактики. В Российской Федерации инфекции мочевых путей относятся к числу наиболее распространенных инфекционных заболеваний, составляя 60–70 % от всех заболеваний мочевыводящих путей, и являются одной из ведущих причин снижения качества жизни и инвалидизации. Основным этиологическим уропатогеном является кишечная палочка. Показаны факторы риска возникновения инфекций мочевых путей. К ним относят врожденную патологию, травмы, беременность, сахарный диабет и пожилой возраст больных.

**Ключевые слова:** инфекции мочевых путей, факторы риска, этиология, антибиотикорезистентность, методы профилактики, эпидемиологический аспект.

В Российской Федерации инфекции мочевых путей (ИМП) относятся к числу наиболее распространенных инфекционных заболеваний, составляя 60–70 % от всех заболеваний мочевыводящих путей, и являются одной из ведущих причин снижения качества жизни и инвалидизации [19]. Особую проблему ИМП представляет высокий уровень рецидивов, при котором заболевание принимает характер хронического с частыми обострениями [46]. ИМП чаще встречаются у женщин, более половины из которых хотя бы один раз в жизни перенесли их [19]. Довольно высока частота возникновения острого цистита, который у женщин в возрасте 20–40 лет составляет 25–35 % от всех регистрируемых ИМП; каждый год им заболевают около 10 % женщин [12].

По данным американских исследователей, частота возникновения ИМП в США составляет более 7 млн случаев в год, из которых более 2 млн связаны с острым циститом [57, 59]. По данным многих авторов, более 100 тыс. случаев госпитализаций в год связаны с пиелонефритом, который ВОЗ относит к проблемам, имеющим социальное значение, так как данное заболевание развивается у лиц трудоспособного возраста и нередко становится причиной инвалидизации [5, 47, 50]. В России ежегодно регистрируется до 1,3 млн случаев острого пиелонефрита [19]. Необходимо отметить, что на его долю приходится как минимум 40 % от всех нозокомиальных инфекций, которые

в большинстве случаев обусловлены катетеризацией мочевого пузыря [20]; нозокомиальная бактериурия развивается у 25 % больных с установленным дольше 7 дней мочевым катетером [58].

**Этиология.** По данным многих авторов, основными возбудителями ИМП являются *Escherichia coli* (64,6 %), *Klebsiella* spp. (9,5 %), *Enterococcus* spp. (6,46 %), *Staphylococcus* spp. (5,1 %) [10, 30, 40]. По характеру течения инфекции ИМП делятся на неосложненные и осложненные. Неосложненные инфекции возникают при отсутствии обструктивных уропатий и структурных изменений в почках, а также у пациентов без серьезных сопутствующих заболеваний. Больные с неосложненными ИМП чаще лечатся в амбулаторных условиях и им не требуется госпитализация. Осложненные ИМП возникают у пациентов с обструктивными уропатиями на фоне инструментальных (инвазивных) методов обследования и лечения, серьезных сопутствующих заболеваний (сахарный диабет, нейтропения). Любые инфекции у мужчин трактуются как осложненные [12, 47]. Неосложненные ИМП более чем в 95 % случаев вызываются одним микроорганизмом, наиболее часто из семейства Enterobacteriaceae. Основным возбудителем является *E. coli* (80–90 %), гораздо реже – *S. saprophyticus* (3–5 %), *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* и др. [10, 30]. При осложненных инфекциях частота выделения *E. coli* снижается, чаще

Сурсякова К.И. – аспирант кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии, e-mail: boydika@yandex.ru  
Сафьянова Т.В. – д.м.н., проф., зав. кафедрой, e-mail: tvsafyanova@yandex.ru

встречаются другие возбудители – *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., грибы (преимущественно *C. albicans*) [8, 27].

В настоящее время особую актуальность приобретает проблема формирования госпитальных штаммов. В нозологической структуре инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, во всех группах больных преобладает нозокомиальная пневмония. На втором месте у хирургических больных стоят нозокомиальные интраабдоминальные инфекции, у терапевтических – антибиотикоассоциированный колит. ИМП составляют в среднем 35 % всех внутрибольничных инфекций, из которых около 80 % связаны с катетеризацией мочевого пузыря [31, 36]. Основными возбудителями ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи, являются *Enterococcus faecalis* – 30,0 %, *Enterococcus* spp. – 7,0 %, *K. pneumoniae* – 7,0 % [8, 27].

Спектр возбудителей нозокомиальных ИМП довольно сложно предсказать, так как он может различаться в разных городах, стационарах и даже в отделениях одного стационара [8, 28]. Большой интерес представляет анализ возбудителей у пациентов пожилого возраста из урологических отделений, у которых наиболее часто выявлялась кокковая флора, при этом стафилококки выделены у 28,4 % человек, энтерококки – у 12,1 % [8]. Из группы стафилококков наиболее часто высеивался *S. aureus* – 10,8 % от числа обследованных пациентов и 38 % от числа больных со стафилококковой инфекцией. Среди других возбудителей отмечены *P. aeruginosa* (9,5%), *K. pneumoniae* (16,2 %), *P. mirabilis* (8,1 %). Эти данные отличаются от приведенных выше и представляют интерес для изучения зависимости частоты возникновения различных нозологий с целью подбора средств антимикробной терапии [41–43].

Интересным направлением является анализ генетических особенностей формирования внутригоспитальных штаммов возбудителей ИМП. По данным российских исследователей, наиболее активно госпитальные штаммы формируют *Enterococcus* spp., *E. coli* и *Klebsiella* spp. (на примере урологического отделения Городской больницы № 26 г. Санкт-Петербурга) [16]. У госпитальных штаммов энтерококков и кишечных палочек часто встречаются гены фагоопосредованных факторов вирулентности, что может говорить об их возможном участии в формировании патогенного потенциала госпитальных штаммов и возможности перекрестных заражений пациентов различными штаммами возбудителей [16, 28].

Основными источниками внутрибольничного инфицирования являются пациенты урологических стационаров. Основные места инфициро-

вания – перевязочная и цистоскопический кабинет. Факторы передачи инфекции – медицинский инструментарий и руки медицинского персонала [22, 35]. Вследствие наличия возможностей для перекрестного инфицирования пациентов и заноса микробов от лиц, страдающими хроническими заболеваниями, в медицинских организациях могут наблюдаться процессы формирования и циркуляции госпитальных штаммов, которые будут вызывать вспышки среди пациентов [24]. Еще одной причиной возникновения нозокомиальных ИМП может быть грибковая инфекция, к наиболее частым патогенам в биологических субстратах относятся грибы рода *Candida*. Данные микробиологического мониторинга в США (исследование в рамках NNIS – Системы надзора за нозокомиальными инфекциями) показали, что *Candida* spp. представляет собой один из десяти основных нозокомиальных патогенов, вызывающих ИМП [21, 56]. В структуре кандидозной инфекции наиболее частым возбудителем является *Candida albicans* [21]. Наличие грибов рода *Candida* в моче не является нормальным показателем, но не обязательно свидетельствует об ИМП. Критичность данной ситуации актуальна при наличии факторов риска, при которых кандидурия может перейти в диссеминированную форму кандидоза. Кроме того, в то время как диагностические критерии для бактериальной ИМП хорошо разработаны и общепризнаны, отсутствие таких критериев для грибковой ИМП затрудняет ее диагностику и лечение [56].

**Факторы риска.** Течение ИМП определяется рядом факторов, таких как возраст, пол, общее состояние пациента, присутствие иммунокомпromетирующих заболеваний (сахарный диабет, нейтропения и др.), применение антибактериальной терапии, предрасполагающей к хронизации процесса в верхних отделах мочевыводящих путей [19, 62]. К другим факторам риска развития хронического пиелонефрита относят нарушение оттока от мочевыводящих путей, беременность, оперативные вмешательства, диагностические и лечебные инвазивные манипуляции [51].

К факторам риска развития обострения ИМП относятся:

- анатомо-физиологические особенности женского организма [48, 55];
- врожденные аномалии развития [48];
- неврологические состояния у пожилых пациенток, связанные с повреждением спинного мозга либо диабетической нейропатией [55], а также такие патологические состояния, как релаксация и выраженное опущение тазового дна, которое ведет к увеличению объема остаточной мочи [24].

– частые сопутствующие гинекологические заболевания (воспалительные процессы во влагалище, гормональные нарушения, в том числе гипоэстрогемия), приводящие к дисбиозу влагалища и размножению в нем патогенной микрофлоры, а также шеечно-вагинальные антитела [17];

– поведенческие аспекты: частота половых актов (наличие инфекций, передаваемых половым путем) и характер применяемых контрацептивов (спермициды), что повышает скорость влагалищной и периуретральной колонизации *E. coli* [19].

– возраст менее 15 лет и при наличии ИМП в анамнезе у матери [53];

– индивидуальные генетические особенности у больных с рецидивирующими инфекциями мочевых путей (РИМП), включая группу крови Lewis, основанную на параметрах 4 антигенов, кодируемых геном *Le* (локализован на хромосоме 19) и полиморфизма toll-подобных рецепторов [16].

**Катетер-ассоциированные инфекции.** Среди внутригоспитальных ИМП отдельной группой стоят катетер-ассоциированные инфекции мочевых путей [20], которые могут возникать в результате экзогенного и эндогенного инфицирования. При эндогенном инфицировании возбудители проникают в мочевыводящие пути из влагалища или прямой кишки [23]. При экзогенном инфицировании микроорганизмы получают доступ в мочевой пузырь двумя способами: по наружной поверхности катетера с периуретральной области и по внутреннему просвету при рефлюксе содержимого дренажного мешка при нарушении герметичности системы [61].

Поверхность катетера является превосходной средой для роста и развития микробов. Как правило, растут на катетерах такие бактерии, как *S. aureus*, *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* [7, 25]. Хотя антибиотикотерапия через катетер предотвращает самые ранние биопленочные образования, длительный срок его использования и (или) несоблюдение правил асептики и антисептики при эндоуретральных и эндовезикальных манипуляциях в большинстве случаев приводит к инфицированию и осложнению заболеваний мочевыделительного тракта [23, 61]. На скорость и обширность формирования биопленок на мочевых катетерах влияет ряд факторов, среди которых можно отметить количество контаминирующих микробных клеток, скорость потока жидкости через катетер, физико-химические характеристики поверхности (материал изготовления) и температуру окружающей среды [20]. Формирование биопленки на-

чинается сразу после прикрепления клеток к поверхности катетера.

Группами риска развития катетер-ассоциированных ИМП являются [34, 37]:

– пациенты с патологией мочевого пузыря, обструктивными уропатиями, хронической почечной недостаточностью;

– лица пожилого возраста, у которых часто наблюдаются нарушения сократительной способности верхних мочевых путей, приводящие к уростазу, ослаблению и угасанию уродинамики;

– пациенты с иммунодефицитными состояниями;

– женщины, так как мочеиспускательный канал у них короче, периуретральная зона и дистальная часть уретры подвержены микробной контаминации;

– женщины в послеродовом периоде вследствие широкой бактериальной обсемененности цервикального канала и нередкой травматизацией мочевого пузыря и мочеиспускательного канала во время родов;

– пациенты с тяжелыми травмами.

Основными факторами риска возникновения катетер-ассоциированных ИМП являются: установка катетера вне операционной, установка катетера на позднем сроке госпитализации, использование мочевых катетеров недопустимых размеров, а также эпидемиологически значимые нарушения процедуры катетеризации мочевого пузыря на всех этапах ее проведения [37].

Визуальная оценка процедуры катетеризации мочевого пузыря у 32 мужчин, осуществляемая с применением двухходовых латексных катетеров Фолея [34, 61, 64], показала, что чаще всего медицинские работники допускают следующие нарушения:

– не используют стерильную простыню при подготовке процедурного столика;

– не укладывают стерильную пленку в зоне катетеризации;

– не устанавливают лоток в зоне катетеризации для сбора использованных материалов;

– применяют при обработке катетера много-разовую фасовку вазелина;

– после появления тока мочи наружный конец катетера опускают в нестерильную емкость;

– в момент присоединения трубки мочеприемника к катетеру последний располагают на нестерильной поверхности.

**Антибиотикорезистентность.** Особенности этиологии ИМП и механизмы формирования внутригоспитальных штаммов тесно связаны с антибиотикорезистентностью [38]. Большое внимание сегодня уделяется связи между назначением антибиотиков, их коллатеральным по-

вреждающим действием и развитием резистентности уропатогенов [52]. В регионах с высоким уровнем назначения фторхинолонов отмечается и высокий уровень резистентности к ним по сравнению с регионами, где препараты этой группы назначаются реже. Несмотря на имеющиеся утвержденные рекомендации по лечению ИМП, проведенные в разных странах исследования свидетельствуют о неправильном назначении антибиотиков как в госпитальной, так и в амбулаторной практике [32]. Микроорганизмы обладают различными механизмами развития резистентности к антибиотикам. Приобретенная устойчивость характеризуется способностью отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть микробной популяции [4, 15]. Появление у бактерий приобретенной резистентности не обязательно сопровождается снижением клинической эффективности антибиотика [4]. Формирование резистентности во всех случаях обусловлено генетически: приобретением новой генетической информации или изменением уровня экспрессии собственных генов [16].

Определение локальной резистентности является трудной задачей. Многие медицинские организации мониторят резистентность в своих микробиологических лабораториях. Эти данные отражают в большей степени спектр нозокомиальной инфекции, чем инфекции, встречающейся у амбулаторных пациентов. Поэтому больничные антибиотикограммы свидетельствуют о более высоком уровне резистентности в различных регионах [9, 26]. Вместе с тем IDSA (Infectious Diseases Society of America) рекомендует избегать применения антимикробных препаратов при локальной резистентности к ним 20 %, допуская, что врачи амбулаторной практики не всегда могут следовать этим рекомендациям. Поэтому изучение резистентности микроорганизмов именно в амбулаторной практике имеет большое практическое значение [29].

В связи с трудностью определения точного уровня географической резистентности во многих исследованиях изучались индивидуальные факторы риска развития резистентной ИМП. К этим факторам относятся возраст больше 60 лет, недавние поездки за рубеж, наличие ИМП в анамнезе, хронические заболевания, недавняя госпитализация и предшествующая антибактериальная терапия. Данные факторы риска должны рассматриваться при назначении эмпирического лечения, и при их наличии необходимо исследование урокультуры до выбора антибиотика [13, 68].

Согласно данным исследования «ДАРМИС», проводимого в 2010–2011 гг. в 26 клинических центрах 18 городов России, Белоруссии и Казахстана, *E. coli* остается наиболее распространенным уропатогеном, составляя, по данным разных авторов, 65–95 % от всех микроорганизмов, выделяемых из мочевыводящих путей. Поэтому неудивительно, что многие эпидемиологические исследования сфокусированы на изучении резистентности *E. coli* [5, 29, 68]; в результате их проведения выявлено, что в отношении данного возбудителя наиболее эффективными пероральными препаратами остаются фосфомицин (98,4 %), фуразидин К (95,7 %) и нитрофурантоин (94,1 %). При этом при неосложненных ИМП чувствительность *E. coli* к фуразидину К (фурамагу) составляет 96,8 %, а при осложненных – 95,0 % [17]. В случае инфекции верхних и нижних отделов мочевых путей чувствительность *E. coli* к фуразидину К была в 94,9 и 96,7 % случаев соответственно. Кроме того, установлено, что уровень резистентности уропатогенов к фуразидину К при неосложненных и осложненных ИМП составил 0,5 и 2,9 % соответственно, что гораздо ниже пороговых 10 % и позволяет использовать антибиотик при эмпирическом выборе лечения ИМП [17].

Из парентеральных препаратов наибольшей активностью в отношении всех *E. coli* обладали меропенем и имипенем (устойчивых к ним штаммов выделено не было). Также высокой *in vitro* активностью обладали эртапенем (99,8 %), амикацин (97,9 %), пиперациллин/тазобактам (93,0 %), гентамицин (90,1 %) и цефалоспорины III–IV поколения (80,8–93,2 %). В отношении всех представителей семейства Enterobacteriaceae наиболее активными были также карбапенемы. В некоторых регионах России было отмечено увеличение процента устойчивых штаммов кишечной палочки к защищенным аминопеницилинам, поэтому эти препараты уже не считаются оптимальными средствами для эмпирической терапии внебольничных ИМП и могут назначаться только в случае документированной чувствительности к ним возбудителей [9].

В России резистентность *E. coli*, выделенной у пациентов с ИМП, к котримоксазолу колеблется от 14,5 % у беременных до 35,5 % у детей [60]; у взрослых с неосложненными ИМП этот показатель составляет 21 % [14, 44]. Очевидно, что уровень резистентности к котримоксазолу превысил критический уровень в 10–20 %, что не позволяет рассматривать этот препарат в качестве терапии выбора при ИМП. Исследования по изучению чувствительности возбудителей ИМП в России позволили рассчитать минимальную подавляю-

щую концентрацию (МПК) основных антибиотиков, применяемых для терапии ИМП, и сравнить их с пиковыми концентрациями в моче. Пиковые концентрации триметоприма (основного и наиболее активного компонента котримоксазола) и ампициллина в моче ниже МПК штаммов *E. coli*, выделенных у пациентов с ИМП [5, 1, 66]. Напротив, фуразидин, фосфомицин и фторхинолоны накапливаются в моче в очень высоких концентрациях, позволяющих превысить МПК в 31 и 19 раз соответственно. Таким образом, котримоксазол и ампициллин в большинстве случаев не создают в моче концентраций, достаточных для эрадикации возбудителя [54, 65].

Особое значение придается ванкомицин-резистентным энтерококкам. Различают шесть фенотипов резистентности энтерококков к ванкомицину (VanA, VanB, VanC, VanD, VanE и VanG). Для фенотипа VanA характерна устойчивость как к ванкомицину, так и к тейкоплакину; фенотипы VanB и VanC устойчивы к ванкомицину и чувствительны к тейкоплакину, но VanB обладает способностью приобретать резистентность к тейкоплакину во время лечения. Также в США был выделен ванкомицин-резистентный *S. aureus* от трех пациентов [5, 24].

В последнее время возрастает частота грибковых нозокомиальных инфекций, и проблема резистентности грибов к противогрибковым препаратам становится все более актуальной [21]. Важную роль в этом играет необоснованное использование антимикотиков, что приводит к селекции резистентных штаммов микроорганизмов. Известны некоторые механизмы формирования устойчивости грибов по группам противогрибковых препаратов, наиболее широко используемых в клинической практике. Флуконазол (препарат из группы *азолов*, к которым также относятся итраконазол, вориконазол, позаконазол) наиболее активен в отношении большинства возбудителей кандидоза и неэффективен при аспергиллезе и микозах, вызванных другими плесневыми микромицетами. Наибольшее клиническое значение имеет вторичная резистентность штаммов *Candida* spp. к флуконазолу, которая, по данным GASG (Global Antifungal Surveillance Group), составила 0,8 %. *Полиены* (нистатин, амфотерицин В) обладают самым широким среди противогрибковых препаратов спектром активности *in vitro*. К амфотерицину В, единственному препарату для системного применения, чувствительны *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *S. neoformans* и некоторые другие грибы. *Эхинокандины* (каспофунгин, микафунгин, анидулафунгин) являются новым классом антимикотиков. Механизм их действия связан с блокадой

синтеза 1,3-β-D-глюкана – важного структурного и функционального компонента клеточной стенки грибов, что приводит к нарушению роста и гибели клетки. В связи с тем, что 1,3-β-D-глюкан отсутствует в организме человека, эхинокандины обладают очень хорошей переносимостью с минимальным количеством нежелательных эффектов. Спектр активности эхинокандинов включает *Aspergillus* spp. (в том числе резистентные к амфотерицину В), *Candida* spp. (включая резистентные к флуконазолу и итраконазолу) [21, 56].

Антибиотикорезистентность – глобальная проблема, которая, в конечном счете, создает угрозу для человечества в целом [4] и в одинаковой степени касается как высокоразвитых и индустриальных, так и развивающихся стран. В настоящее время накоплены убедительные данные, полученные в исследованиях *in vitro* и в клинических испытаниях, которые позволяют утверждать, что клиническая и микробиологическая эффективность антибиотиков в 1,6–3 раза меньше у пациентов с ИМП, вызванными резистентными возбудителями [1, 39]. В качестве препаратов эмпирического выбора при ИМП сегодня рекомендовано рассматривать антимикробные препараты и антибиотики с сохранной микробиологической активностью по отношению к *E. coli*, такие, как нитрофураны, фосфомицин, фторхинолоны [24, 49]. В каждой медицинской организации должен быть свой, регулярно обновляемый, паспорт резистентности. В первую очередь это относится к отделениям интенсивной терапии, урологическим, ожоговым, хирургическим – там, где высока частота применения антибиотиков [33, 38]. Подобные мероприятия позволят прогнозировать распространение резистентности, выявлять факторы, влияющие на скорость этого процесса, что, в свою очередь, открывает перспективы управления им. Только одновременно проводимые комплексные действия по сдерживанию роста антибиотикорезистентности в каждой отдельной стране смогут дать положительные результаты во всем мире [4, 5, 44].

**Профилактика.** Основными методами профилактики ИМП остаются организация работ по очистке, дезинфекции и стерилизации изделий медицинского назначения. Анализ ситуации в государственных медицинских организациях выявил наличие проблем в этой области: недостаточно рациональный и обоснованный выбор дезинфектантов; ошибки при подборе дезинфицирующих средств в зависимости от вида обеззараживания, объекта и условий проведения дезинфекции, а также учета типа подразделения и вида микроорганизмов, циркулирующих в стационаре [5, 44].

В качестве профилактики ИМП, связанных с внутригоспитальным инфицированием, рекомендуется применять катетеры «закрытого» типа и устанавливать их на минимальный срок. Замену катетера предлагается проводить только по строгим показаниям (например, при его обструкции). При постановке уретральных катетеров и уходе за ними медицинский персонал должен соблюдать протоколы гигиены рук и использовать одноразовые перчатки [37, 45]. Для обработки периауретральной области следует применять разовые флаконы. Разъединение катетера и дренажной трубки допускается только в случае, когда необходима ирригация катетера. Для снижения риска контаминации мочевого пузыря и предупреждения рефлюкса мочи емкость для сбора мочи рекомендуется располагать ниже уровня кровати пациента, но не вблизи от пола [34]. В качестве антибактериальной профилактики при трансуретральных эндоскопических процедурах и операциях рекомендуется одно- или двукратное введение фторхинолонов, цефалоспоринов. Обработка антибиотиками катетера, уретры и области наружного отверстия уретры в процессе катетеризации не рекомендуется [64]. Представлен пошаговый порядок катетеризации мочевого пузыря с выделением 8 этапов эпидемиологически безопасной процедуры [20, 34]: 1) предварительная обработка рук и процедурного столика, 2) подготовка расходных материалов, 3) подготовка пациента, 4) обработка периауретральной области, 5) подготовка катетера к процедуре, 6) проведение катетеризации, 7) подключение мочевого пузыря, 8) завершающая дезинфекция расходных материалов и обработка рук.

Для сокращения рецидивов ИМП проведен ряд исследований, посвященных изучению эффективности различных препаратов для внутрипузырного введения, которые оказывают протективное действие на уротелий и препятствуют адгезии и вытеснению патогенных микроорганизмов [28]. Эффективным по результатам исследований оказалось внутривезикулярное введение 1,6%-й гиалуроновой кислоты и 2%-го хондроитинсульфата с пероральным приемом фосфомицина по 3,0 г каждые 10 дней в течение 6 мес [2].

Вариантом неантибактериальной профилактики ИМП является иммуноактивная профилактика, при которой антигены патогенных микроорганизмов применяются перорально или местно и стимулируют повышение иммунного ответа в местах инфицирования, таких как мочевыводящие пути [11, 56]. Альтернативным методом профилактики РИМП служит применение препаратов клюквы; в качестве основного действующего вещества в данном случае выступают проантоциа-

нидины, механизм действия которых заключается в подавлении синтеза фимбрий (при длительном воздействии проантоцианидинов на *E. coli* ее адгезивная способность снижается) [22]. Ежедневное потребление продуктов клюквы, содержащих не менее 36 мг проантоцианидинов, может быть рекомендовано для профилактики РИМП [3].

Применение пробиотиков в целях профилактики РИМП является популярной и давно обсуждаемой темой. Суспензии непатогенных штаммов *Lactobacillus*, родов *Bifidobacteria* или *Saccharomyces* вводят во влагалище для колонизации эпителия, предотвращения адгезии и вытеснения патогенных микроорганизмов. В недавнем исследовании, проведенном в Сиэтле, 48 женщин с ИМП в анамнезе получали интравагинально пробиотик Lactin-V (*L. crispatus*) в течение 10 недель. Это лечение значительно снизило частоту рецидивов ИМП по сравнению с контрольной группой, получавшей плацебо [63]. В другом рандомизированном исследовании эффективность  $H_2O_2$ -продуцирующих лактобактерий оказалась ниже, чем эффективность антимикробной профилактики триметоприм-сульфаметаксозолом [66]. Необходимо проведение дальнейших, более крупных рандомизированных исследований. В руководстве Европейской ассоциации урологов отмечено, что регулярное интравагинальное применение пробиотиков, содержащих лактобактерии, может быть рекомендовано для профилактики РИМП [3, 67].

Другой подход в отношении РИМП без применения антибиотиков заключается в применении низковирулентных штаммов микроорганизмов для колонизации мочевыводящих путей и подавления их инфицирования патогенными штаммами, что показано в некоторых клинических исследованиях [2]. Хорошие перспективы для применения в качестве антимикробной терапии при РИМП имеют препараты бактериофагов [11]. Их основными достоинствами являются высокая чувствительность условно-патогенной микрофлоры, сочетаемость со всеми видами традиционной антибиотикотерапии, отсутствие противопоказаний [2, 11]. Альтернативное лечение женщин в постклимактерическом периоде включает местную эстрогензаместительную терапию. Местное применение эстриола может привести к существенному снижению частоты возникновения ИМП и повышению уровня лактобактерий во влагалище, что способствует улучшению влагалищного биоценоза [67].

Интересным направлением является использование в хирургической и урологической практике периоперационной антибиотикопрофилактики (пре-, интра- и постоперационная). Ос-

новые исследования показывают, что послеоперационные осложнения предотвращаются в том случае, если высокая концентрация антибактериального препарата в сыворотке крови (и в тканях) создана к началу оперативного вмешательства. В клинической практике оптимальное время для антибиотикопрофилактики – 30–60 мин до начала операции (при условии внутривенного введения антибиотика), т. е. в начале анестезиологических мероприятий. Отмечен значительный рост частоты возникновения послеоперационных инфекций, если профилактическая доза антибиотика была назначена более чем за 1 ч до проведения операции. Любой антибактериальный препарат, введенный после закрытия операционной раны, не повлияет на вероятность развития осложнений. Таким образом, однократное введение адекватного антибактериального препарата в целях профилактики не менее эффективно, чем многократное. Только при длительном оперативном вмешательстве (более 3 ч) требуется дополнительная доза. Антибиотикопрофилактика не может продолжаться более 24 ч, так как в этом случае применение антибиотика рассматривается уже как терапия [2, 4].

Идеальный антибиотик, в том числе и для периоперационной профилактики, должен быть высокоэффективным, малотоксичным, хорошо переноситься больными. Его антибактериальный спектр должен включать вероятную микрофлору. Для пациентов, длительно находящихся в стационаре до проведения оперативного вмешательства, необходимо принимать во внимание спектр нозокомиальных микроорганизмов с учетом их антибиотикочувствительности [3, 19].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Актуальные проблемы лечения инфекций мочевыводящих путей // Эффектив. фармакотерапия. 2014. (54). 14–21.
2. Алиджанов Ж.Ф., Naber K.G. Существуют ли альтернативные методы антибактериальной терапии и профилактики неосложненных инфекций мочевыводящих путей? // Урология. 2014. (6). 5–13.
3. Алиев Р.М., Хузиханов Ф.В. Обоснование экономического эффекта медико-социальной профилактики среди больных пиелонефритом // Фундам. исслед. 2015. (1-6). 1112–1114.
4. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов. Обновленные Российские национальные рекомендации. М., 2014. Режим доступа: <http://www.uro-so.ru/Prezentacii/Pererpanova.pdf>.
5. Архипов Е.В., Сигитова О.Н., Богданова А.Р. Современные рекомендации по диагностике и лечению пиелонефрита с позиции доказательной медицины // Вестн. соврем. клин. медицина. 2015. 8. (6). 115–120.
6. Асланов Б.И., Долгий А.А., Гончаров А.Е., Архангельский А.И. Эпидемиологические особенности формирования патогенных свойств *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* в урологическом стационаре // Профилактикт. и клин. медицина. 2012. (2). 52–57.
7. Асланов Б.И., Долгий А.А., Гончаров А.Е., Архангельский А.И. Эпидемиологические особенности формирования патогенных свойств *Klebsiella* sp. и *Pseudomonas* sp. в урологическом стационаре // Профилактикт. и клин. медицина. 2012. (3). 50–54.
8. Брико Н.И., Брусина Е.Б., Зуева Л.П., Ковалишина О.В., Ряпис Л.А., Стасенко В.Л., Фельдблюм И.В., Шкарин В.В. Госпитальный штамм – непознанная реальность // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013. (1). 30–35.
9. Будник Т.В. Антибиотикорезистентность в контексте инфекций мочевыводящих путей // Семейн. медицина. 2015. (4). 77.
10. Бузолева Л.С., Кузнецова Н.А. Характеристика штаммов бактерий, выделенных от больных с инфекциями мочевыводящих путей // Тихоокеан. мед. журн. 2011. (1). 51–53.
11. Гаджиева З.К., Казилев Ю.Б. Особенности подхода к профилактике рецидивирующей инфекции мочевыводящих путей // Урология. 2016. (3). 65–76.
12. Геворкян А.Р., Авакян А.Ю., Павлюк М.Д., Пинчук И.С. Неосложненные инфекции нижних мочевых путей у пациентов западного округа Москвы в 2013–2014 гг. // Мед. вестн. Башкортостана. 2015. (3). 90–92.
13. Глинская Е.В., Аль-Баяти Б.М., Нечаева О.В., Лунева И.О. Чувствительность к антибиотикам патогенных микроорганизмов при смешанных инфекциях мочевыводящих путей // Изв. Саратов. ун-та. Новая сер. Сер. Химия. Биол. Экол. 2015. 15. (4). 63–66.
14. Дедкова Н.С., Митенева О.А., Сиротина А.А., Щербакова Е.И. Стратегия контроля за антимикробной терапией в многопрофильном стационаре (инфекции мочевыводящих путей) // Бюл. СГМУ. 2014. (1). 105–106.
15. Дмитриева Н.В., Петухова И.Н. Антибактериальные препараты // Онкоурология. Фармакотерапия без ошибок: рук-во для врачей / ред. И.Г. Рузаков, В.И. Борисов. М., 2014. 291–344.
16. Долгий А.А., Асланов Б.И., Колоджиева В.В., Гончаров А.Е., Зуева Л.П. Генетические особенности основных возбудителей инфекций мочевыводящих путей // Профилактикт. медицина. 2013. (1). 69–74.
17. Задкина И.Н., Родина О.П., Моисеева И.Я., Водопьянова О.А., Семенова Е.Ф., Колесникова С.Г., Антропова Н.В. Анализ эффективности способов подбора этиотропной терапии в стационарной

- урологической практике // Фундам. исслед. 2014. (10-2). 275–278.
18. *Зайцев А.В., Тупикина Н.В.* Рецидивирующая инфекция мочевых путей – междисциплинарная проблема // Мед. сов. 2014. (19). 36–45.
19. Инфекции мочевыводящих путей у детей, взрослых, беременных: цистит, пиелонефрит, бессимптомная бактериурия: клинические рекомендации Общероссийской общественной организации «Ассоциация врачей общей практики (семейных врачей) Российской Федерации». М.; Казань; Ростов-н/Д., 2014. Режим доступа: <http://sev6b6.ru/doc/klinicheskie-rekomendacii/infekciya-mochevyvodyashhix-putej.pdf>.
20. *Каприн А.Д., Костин А.А., Попов С.В.* Катетер-ассоциированные инфекции мочевых путей // Справ. врача общ. практика. 2016. (3). 34–38.
21. *Коган М.И., Ибишев Х.С., Куцевалова О.Ю., Газаев З.И.* Микотическая инфекция в этиологической структуре осложненной инфекции мочевых путей // Мед. вестн. Башкортостана. 2011. 6. (2). 101–103.
22. *Коза Н.М.* Факторы риска и профилактика внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей // Перм. мед. журн. 2015. 32. (1). 135–140.
23. *Кондратова Н.В.* Контроль инфекционной безопасности при использовании мочевыводящих катетеров: требования международных стандартов качества // Упр. качеством в здравоохран. 2015. (4). 17–23.
24. *Круглякова Л.В., Сулима М.В.* Лечение инфекций мочевыводящих путей: достижение и проблемы // Амур. мед. журн. 2016. 1. (13). 93–99.
25. *Лагун Л.В., Жаворонок С.В.* Бактериальные биопленки и их роль в развитии инфекций мочевыводящих путей // Мед. журн. 2013. (4). 21–27.
26. *Лебедева М.С., Еркович А.А., Нотов К.Г.* Программа сдерживания антибиотикорезистентности в урологической практике // Мед. и образ. в Сибири. 2015. (6). 40.
27. *Миртазаев О.М., Ахмедов Р.Н., Турсунов Р.Б., Нурузова З.А., Мухамеджанова Н.Н.* Госпитальные инфекции мочевыводящих путей: мониторинг микрофлоры как средство выбора эффективной терапии // Врач-аспирант. 2012. 51. (2). 97–104.
28. *Митрофанова Н.Н., Мельников В.Л., Милованова О.С., Духовнова К.М.* Особенности структуры и антибиотикочувствительности уропатогенов в отделении многопрофильного лечебно-профилактического учреждения // Актуальные проблемы медицинской науки и образования (АПМНО-2015): сб. ст. V Международ. науч. конф. Пенза, 2015. 103–104.
29. *Натрус Л.В., Поповиченко Л.Л., Колесников В.С.* Характеристика антибиотикочувствительности инфекции и их антибиотикочувствительность у пациентов с урологической патологией // Современные исследования медико-биологических наук: совершенствование диагностики, разработка средств профилактики и терапии болезней: сб. мат. Междунар. науч. конф. / ред. Л.В. Натрус. Киров, 2013. 270–278.
30. *Нусратуллоев И.Н., Усманова Г.М., Тусматов Ш.М., Сабдуллоев Ф.С.* Определение этиологической структуры и антибиотикочувствительности при осложненных инфекциях мочевыводящих путей // Вестн. пед. ун-та. 2013. (5). 84–88.
31. *Перепанова Т.С.* Нозокомиальные инфекции мочевыводящих путей. Катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей // Послеоперационные инфекционные осложнения. М., 2013. 251–270.
32. *Перепанова Т.С., Козлов Р.С., Дехнич А.В., Палагин И.С., Шевелев А.Н., Волкова Е.М., Эгамбердиев Д.К.* Эмпирический выбор антимикробных препаратов при неосложненной инфекции нижних мочевых путей: исследование резистентности возбудителей «ДАРМИС» // Эксперим. и клин. урология. 2012. (2). 4–8.
33. *Петухова И.Н., Дмитриева Н.В.* Инфекции мочевыводящих путей у онкологических больных // Злокачеств. опухоли. 2014. (3). 160–163.
34. *Сергеев В.И., Ключарева Н.М.* Факторы риска и профилактика внутрибольничных катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей // Зам. глав. врача. 2016. (4). 82–85.
35. *Сергеев В.И., Ключарева Н.М.* Эпидемиологически безопасный порядок катетеризации мочевого пузыря // Мед. сестра. 2014. (6). 41–44.
36. *Сергеев В.И., Ключарева Н.М., Волкова Э.О.* Частота гнойно-септических инфекций среди пациентов реанимационного отделения многопрофильной больницы и чувствительность доминирующего возбудителя (*Pseudomonas aeruginosa*) к антибиотикам и дезинфектантам // Мед. альм. 2014. (2). 36–39.
37. *Синякова Л.А.* Антибактериальная терапия острого пиелонефрита // Эффектив. фармакотерапия. 2016. (11). 34–39.
38. *Тусматов Ш.М., Нусратуллоев И.Н., Рафиев Х.К.* Внутрибольничная инфекция у послеоперационных больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы // Вестн. Авиценны. 2015. (4). 53–56.
39. *Тусматов Ш.М., Рафиев Х.К., Нусратуллоев И.Н.* Изучение этиологической структуры осложненных инфекций мочевыводящих путей // Вестн. пед. ун-та. 2015. (2-2). 219–222.
40. Урологические инфекции // Урология: клинические рекомендации. М., 2014. 320–369.
41. *Федорова Т.О., Михайлова Е.А., Махалова Г.О., Кшняева С.К.* Мониторинг резистентности клинических урогенитальных штаммов *P. aeruginosa* // Современ. тенденции развития науки и технологии. 2015. (1-3). 77–79.



42. Хабаров М.А. Нежелательные лекарственные реакции при антибиотикотерапии инфекций мочевыводящих путей у взрослых // Бюл. мед. интернет-конф. 2015. 5. (5). 824.
43. Яковец Я.В., Неймарк А.И. Рациональная антибиотикотерапия неспецифических воспалительных заболеваний мочеполового тракта // Мед. обоз. Наука и практика. 2015. (3). 4–8.
44. Яковлев С.В., Суворова М.П. Нозокомиальные инфекции мочевыводящих путей // Урология. 2016. (S3). 45–64.
45. Ярец Ю.И., Шевченко Н.И., Старовойтов А.А., Русаленко М.Г. Хронические инфекции мочевыводящих путей: состояние проблемы // Мед.-биол. пробл. жизнедеятельности. 2015. (2). 18–23.
46. Ali A.B., Bagnis C.I. Recurrent urinary tract infection // Rev. Prat. 2014. 64. (7). 969–971. [In French].
47. Arshad M., Seed P.C. Urinary tract infections in the infant // Clin. Perinatol. 2015. 42. (1). 17–28.
48. Ciesielczuk H., Betts J., Phee L., Doumith M., Hope R., Woodford N., Wareham D.W. Comparative virulence of urinary and bloodstream isolates of extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* in a *Galleria mellonella* model // Virulence. 2015. 6. (2). 145–151.
49. European Association of Urology Guidelines on Urological Infections 2013. Режим доступа: [http://uroweb.org/wp-content/uploads/18\\_Urological-infections\\_LR.pdf](http://uroweb.org/wp-content/uploads/18_Urological-infections_LR.pdf).
50. Faine B.A., Harland K.K., Porter B., Liang S.Y., Mohr N. A clinical decision rule identifies risk factors associated with antimicrobial-resistant urinary pathogens in the emergency department: a retrospective validation study // Ann. Pharmacother. 2015. 49. (6). 649–655.
51. Flores-Mireles A.L., Walker J.N., Caparon M., Hultgren S.J. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options // Nat. Rev. Microbiol. 2015. 13. (5). 269–284.
52. Frumkin K. Bacteriology of urinary tract infections in emergency patients aged 0–36 months // J. Emerg. Med. 2015. 48. (4). 405–415.
53. Gupta K. Urinary tract infections: diagnostic and management issues. Preface // Infect. Dis. Clin. North Am. 2014. 28. (1). ix–x.
54. Horwitz D., McCue T., Mapes A.C., Ajami N.J., Petrosino J.F., Ramig R.F., Trautner B.W. Decreased microbiota diversity associated with urinary tract infection in a trial of bacterial interference // J. Infect. 2015. 71. (3). 358–367.
55. Kauffman C.A. Diagnosis and management of fungal urinary tract infection // Infect. Dis. Clin. North Am. 2014. 28. (1). 61–74..
56. Kumar S., Dave A., Wolf B., Lerma E.V. Urinary tract infections // Dis. Mon. 2015. 61. (2). 45–59.
57. Magarifuchi H., Kusaba K., Yamakuchi H., Hamada Y., Urakami T., Aoki Y. *Staphylococcus sapro-*  
*phyticus* native valve endocarditis in a diabetic patient with neurogenic bladder: A case report // J. Infect. Chemother. 2015. 21. (9). 695–699.
58. Maki D.G., Tambyah P.A. Engineering out the risk for infection with urinary catheters // Emerg. Infect. Dis. 2001. 7. (2). 342–347.
59. McNulty C.A., Verlander N.Q., Moore P.C., Larcombe J., Dudley J., Banerjee J., Jadresic L. Do English NHS microbiology laboratories offer adequate services for the diagnosis of UTI in children? Healthcare Quality Improvement Partnership (HQIP) audit of standard operational procedures // J. Med. Microbiol. 2015. 64. (9). 1030–1039.
60. Mody L., Meddings J., Edson B.S., McNamara S.E., Trautner B.W., Stone N.D., Krein S.L., Saint S. Enhancing resident safety by preventing healthcare-associated infection: A national initiative to reduce catheter-associated urinary tract infections in nursing homes // Clin. Infect. Dis. 2015. 61. (1). 86–94.
61. Rosen J.M., Klumpp D.J. Mechanisms of pain from urinary tract infection // Int. J. Urol. 2014. 21. (Suppl. 1). 26–32.
62. Saint S., Greene M.T., Krein S.L., Rogers M.A., Ratz D., Fowler K.E., Edson B.S., Watson S.R., Meyer-Lucas B., Masuga M., Faulkner K., Gould C.V., Battles J., Fakih M.G. A program to prevent catheter-associated urinary tract infection in acute care // N. Engl. J. Med. 2016. 374. (22). 2111–2119.
63. Stapleton A.E., Au-Yeung M., Hooton T.M., Fredricks D.N., Roberts P.L., Czaja C.A., Yarova-Yarovaya Y., Fiedler T., Cox M., Stamm W.E. Randomized, placebo-controlled phase 2 trial of a *Lactobacillus crispatus* probiotic given intravaginally for prevention of recurrent urinary tract infection // Clin. Infect. Dis. 2011. 52. (10). 1212–1217.
64. Stief C.G., Weidner W. Urological infectiology // Urologe A. 2014. 53. (10). 1443. [In German].
65. Stuck A.K., Tauber M.G., Schabel M., Lehmann T., Suter H., Muhlemann K. Determinants of quinolone versus trimethoprim-sulfamethoxazole use for outpatient urinary tract infection // Antimicrob. Agents Chemother. 2012. 56. (3). 1359–1363.
66. Sunden F., Hakansson L., Ljunggren E., Wullt B. *Escherichia coli* 83972 bacteriuria protects against recurrent lower urinary tract infections in patients with incomplete bladder emptying // J. Urol. 2010. 184. (1). 179–185.
67. Torella M., Schettino M.T., Salvatore S., Serrati M., De Franciscis P., Colacurci N. Intravesical therapy in recurrent cystitis: a multi-center experience // J. Infect. Chemother. 2013. 19. (5). 920–925.
68. Ulleryd P., Sandberg T., Scheutz F., Clabots C., Johnston B.D., Thurs P., Johnson J.R. Colonization with *Escherichia coli* strains among female sex partners of men with febrile urinary tract infection // J. Clin. Microbiol. 2015. 53. (6). 1947–1950.

## SOME EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF URINARY TRACT INFECTIONS (REVIEW)

**Kseniya Ivanovna SURSYAKOVA, Tatyana Viktorovna SAFYANOVA**

*Altai State Medical University of Minzdrav of Russia  
656038, Barnaul, Lenin av., 40*

---

The latest data of Russian and foreign authors concerning urinary tract infections are represented in this article. Epidemic and etiologic aspects of the infections, mechanism of inpatient strains forming connected with antibiotic resistance and the modern prophylactic measures have been revealed. Urinary tract infections belong to the most common infectious diseases of the urinary tract amounting to 6–70 % of the all urinary tract diseases in the Russian Federation and are one of the main causes of life quality decreasing and disability. *Escherichia coli* are the main etiologic uropathogen. The risk factors of urinary tract infections occurrence have been presented. they are: congenital pathology, trauma, pregnancy, diabetes mellitus and elderly age of the patients.

---

**Key words:** urinary tract infections, risk factors, etiology, antibiotic resistance, prophylactic measures, epidemiological aspect.

*Sursyakova K.I. – postgraduate student of department for epidemiology, microbiology and virology,  
e-mail: boydika@yandex.ru*

*Safyanova T.V. – doctor of medical sciences, professor; head of department for epidemiology, microbiology  
and virology, e-mail: tvsafyanova@yandex.ru*

## ОСОБЕННОСТИ ТЕЛОСЛОЖЕНИЯ МУЖЧИН, УМЕРШИХ ОТ ИНФАРКТА МИОКАРДА

**Николай Станиславович ГОРБУНОВ, Дмитрий Николаевич ГОРБУНОВ,  
Андрей Николаевич РУССКИХ, Сергей Викторович АРХИПКИН,  
Анна Дмитриевна ШАБОХА**

*Красноярский государственный медицинский университет  
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России  
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1*

Цель исследования – выявление конституциональных особенностей трупов мужчин II периода зрелого возраста, умерших от острого и повторного инфаркта миокарда. **Материал и методы.** Проведено антропометрическое исследование 84 трупов мужчин второго периода зрелого возраста (36–60 лет), умерших от острого и повторного инфаркта миокарда, с определением типа телосложения по Шевкуненко, по Черноруцкому, по Рису и Айзенку, полового диморфизма по индексу Таннера, формы фаса живота по Жукову, типа массы тела по Кетле и плотности тела по Рореру. **Результаты и их обсуждение.** Среди мужчин, умерших от острого инфаркта миокарда, чаще встречаются лица нормостенического (по Черноруцкому) и астенического (по Рису и Айзенку) типов, среди мужчин, умерших от повторного инфаркта миокарда – лица гиперстенического, пикнического типа и с ожирением I-й степени.

**Ключевые слова:** трупы мужчин, типы телосложения, первичный и повторный инфаркт миокарда.

Между конституциональными особенностями и инфарктом миокарда у людей существуют определенные взаимосвязи. Так, высокая частота заболеваемости инфарктом миокарда выявляется среди нормостеников [8], брюшной соматотип ассоциируется с высокой распространенностью острого инфаркта миокарда, а неопределенный – с высокой частотой осложнений [7]. У мужчин второго периода зрелого возраста, перенесших инфаркт миокарда, чаще выявляется брюшной и неопределенный соматотипы, а повторный инфаркт миокарда у мужчин мускульного типа телосложения [6]. Для лиц с ишемической болезнью сердца, перенесших инфаркт миокарда, в большей степени характерен брахиморфный тип телосложения, в меньшей – мезо- и долихоморфный [1]. Независимыми предикторами ранее перенесенного инфаркта миокарда является

гиперстеническое телосложение и индивидуально-значимая стрессовая ситуация [2]. Однако эти сведения касаются живых людей, но в отношении людей, не болеющих, а умерших от инфаркта миокарда, подобные исследования ограничены. Поэтому целью настоящего исследования послужило выявление конституциональных особенностей мужчин второго периода зрелого возраста, умерших от острого и повторного инфаркта миокарда.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В отделе экспертизы трупов Красноярского краевого бюро судебно-медицинской экспертизы с 2003 по 2013 г. проведено антропометрическое исследование 84 мужчин второго периода зрелого возраста (36–60 лет), умерших от острого (58 человек, 69 %) и повторного (26 человек, 31 %) ин-

*Горбунов Н.С. – д.м.н., проф., зав. кафедрой оперативной хирургии с топографической анатомией,  
e-mail: gorbunov\_ns@mail.ru*

*Горбунов Д.Н. – к.м.н., ассистент кафедры и клиники сердечно-сосудистой хирургии ИПО,  
e-mail: Dr\_gorbunov@mail.ru*

*Русских А.Н. – к.м.н., доцент кафедры оперативной хирургии с топографической анатомией,  
e-mail: chegevara-84@mail.ru*

*Архипкин С.В. – завуч, старший преподаватель кафедры оперативной хирургии с топографической анатомией, e-mail: sergey1510@ya.ru*

*Шабоха А.Д. – к.м.н., старший преподаватель кафедры оперативной хирургии с топографической анатомией, e-mail: tat\_yak@mail.ru*

фаркта миокарда. У всех мужчин проводилось измерение роста, веса, диаметров плеч и таза, диаметров и обхвата грудной клетки, длины туловища.

Тип телосложения по Шевкуненко определяли по формуле: индекс = длина туловища, в см  $\times$  100/рост, в см [10]. Индекс относительной длины туловища меньше 28,5 соответствует долихоморфному типу телосложения, 28,5–31,5 – мезоморфному и больше 31,5 – брахиморфному. Тип телосложения по Черноруцкому определяли по индексу Пинье, индекс = рост, в см – (масса тела, в кг + окружность грудной клетки, в см) [9]. Индекс Пинье больше 30 соответствует астеническому типу телосложению, от 30 до 10 включительно – нормостеническому, меньше 10 – гиперстеническому. Тип телосложения по Рису и Айзенку определяли по формуле: индекс = длина тела, в см  $\times$  100/диаметр грудной клетки, в см  $\times$  6 [11]. Индекс меньше 96 соответствует пикническому типу телосложения, 96–106 – нормостеническому и больше 106 – астеническому.

Половой диморфизм определяли по индексу Таннера, индекс = 3  $\times$  (ширина плеч, в мм – ширина таза, в мм) [12]. Индекс Таннера меньше 836 соответствует гинекоморфному типу, 836–930 – мезоморфному, больше 930 – андроморфному. Форму фаса живота по Жукову определяли по формуле: индекс = расстояние между X ребрами, в см  $\times$  100/расстояние между передневерхними подвздошными остями, в см [3]. Индекс больше 102,5 соответствует форме живота, расширенной вверх, от 97,5 до 102,5 – овоидной форме, меньше 97,5 – форме живота, расширенной вниз. Тип массы тела по Кетле определяли по формуле: индекс = масса тела, в кг/рост, в м<sup>2</sup> [5]. В соответствии с рекомендациями ВОЗ индекс Кетле больше 40 соответствует ожирению третьей степени, от 35,1 до 40 – ожирению второй степени, от 30,1 до 35 – ожирению первой степени, от 25,1 до 30 – избыточной массе тела, от 18,6 до 25 – норме, от 16,118,5 – недостаточной массе тела, 16 и меньше – выраженному дефициту массы тела. Тип плотности тела по Рореру определяли по формуле индекс = масса тела, в кг/рост, в м<sup>3</sup> [5]. При индексе Рорера более 13,7 кг/м<sup>3</sup> плотность тела оценивается как высокая, от 10,7 до 13,7 кг/м<sup>3</sup> – как средняя, менее 10,7 кг/м<sup>3</sup> – как низкая.

При оценке результатов антропометрического исследования учитывали региональные особенности [4]. Описательные статистики представлены процентными долями и стандартной ошибкой доли ( $P \pm m$ ). Статистическую обработку данных выполняли с оценкой достоверности различий по  $\chi^2$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Антропометрическое обследование 89 мужчин второго периода зрелого возраста (36–60 лет), умерших от острого или от повторного инфаркта миокарда, выявило особенности частоты встречаемости типов телосложения. При соматотипировании по классификациям Шевкуненко и Таннера, лапаротипировании по Жукову, определении индекса плотности тела по Рореру среди мужчин, умерших от острого или повторного инфаркта миокарда, не выявлено значимых отличий частоты встречаемости лиц с разными анатомическими типами (таблица). Среди всех групп трупов мужчин одинаково значимо чаще выявлялись лица с мезоморфным (по Шевкуненко) и андроморфным (по Таннеру) типом телосложения, формой живота, расширенной вниз (по Жукову), высоким типом плотности тела (по Рореру).

По индексу Пинье среди мужчин, умерших от острого инфаркта миокарда, в 37,9 % случаев встречаются лица с гиперстеническим, в 56,9 % – с нормостеническим, в 5,2 % – с астеническим типом телосложения (см. таблицу); соотношение: 7,3 : 10,9 : 1,0. Среди мужчин, умерших от повторного инфаркта миокарда, значимо чаще встречаются лица с гиперстеническим типом телосложения (65,4 %), реже – с нормостеническим и не встретились люди с астеническим типом телосложения. Таким образом, среди мужчин, умерших от острого инфаркта миокарда, в 1,6 раза чаще встречаются лица с нормостеническим типом телосложения, а среди мужчин, умерших от повторного инфаркта миокарда, больше гиперстеников (в 1,7 раза).

При использовании классификации Риса и Айзенка установлено, что среди мужчин, умерших от острого инфаркта миокарда, 10,3 % лиц пикнического типа телосложения, 41,4 % – нормостенического, 48,3 % – астенического, соотношение: 1,0 : 4,0 : 4,7. Среди мужчин, умерших от повторного инфаркта миокарда, лица с пикническим типом телосложения встречаются в 38,5 % случаев, с нормостеническим – в 42,3 %, с астеническим – в 19,2 %, соотношение: 2,0 : 2,2 : 1,0. Следовательно, среди мужчин, умерших от острого инфаркта миокарда, по классификации Риса и Айзенка, чаще встречаются лица астенического телосложения (в 2,5 раза,  $p < 0,05$ ), а среди умерших от повторного инфаркта миокарда – пикнического (в 3,7 раза,  $p < 0,05$ ).

Среди мужчин, умерших от острого инфаркта миокарда, лица с ожирением 3-й степени (классификация Кетле) не встречались, с ожирением 2-й и 1-й степени отмечено соответственно

Таблица

Частота встречаемости трупов мужчин с разными анатомическими типами, %

Анатомический тип	Инфаркт миокарда, n = 84	Острый инфаркт миокарда, n = 58	Повторный инфаркт миокарда, n = 26
Тип телосложения по классификации Шевкуненко:			
брахиморфный	6,7 ± 2,6	6,9 ± 3,3	7,7 ± 5,2
мезоморфный	77,6 ± 4,4	81,0 ± 5,1	69,2 ± 9,0
долихоморфный	15,7 ± 3,8	12,1 ± 4,2	23,1 ± 8,2
Тип телосложения по классификации Таннера:			
андроморфный	58,4 ± 5,2	67,2 ± 6,1	46,2 ± 9,7
мезоморфный	33,7 ± 4,9	25,9 ± 5,7	42,3 ± 9,6
гинекоморфный	7,9 ± 2,8	6,9 ± 3,3	11,5 ± 6,2
Форма живота по классификации Жукова:			
расширенная вверх	25,8 ± 4,6	19,0 ± 5,1	38,5 ± 9,5
овоидная	6,7 ± 2,6	5,2 ± 2,9	11,5 ± 6,2
расширенная вниз	67,5 ± 4,9	75,8 ± 5,6	50,0 ± 9,8
Тип плотности тела по классификации Рорера:			
высокая	77,6 ± 4,4	77,2 ± 5,5	76,9 ± 8,2
средняя	20,2 ± 4,2	21,0 ± 5,3	23,1 ± 8,2
низкая	2,2 ± 1,5	1,8 ± 1,7	0
Тип телосложения по классификации Черноуцко:			
гиперстенический	49,4 ± 5,2	37,9 ± 6,3	65,4 ± 9,3*
нормостенический	47,2 ± 5,3	56,9 ± 6,5	34,6 ± 9,3
астенический	3,4 ± 1,5	5,2 ± 2,9	0
Тип телосложения по классификации Риса и Айзенка:			
пикнический	22,5 ± 4,4	10,3 ± 3,9	38,5 ± 9,5**
нормостенический	41,5 ± 5,2	41,4 ± 6,4	42,3 ± 9,6
астенический	36 ± 5	48,3 ± 6,5	19,2 ± 7,7**
Тип массы тела по классификации Кетле:			
ожирение 3-й степени	0	0	0
ожирение 2-й степени	2,2 ± 1,5	3,4 ± 2,3	0
ожирение 1-й степени	11,2 ± 3,3	5,2 ± 2,9	23,1 ± 8,2*
избыточная	58,5 ± 5,2	60,3 ± 6,4	50,0 ± 9,8
норма	25,7 ± 4,6	27,6 ± 5,8	26,9 ± 8,6
недостаточная	1,1 ± 1,1	1,7 ± 1,6	0
дефицит	1,1 ± 1,1	0	0

Примечание. Отличие от величины соответствующего показателя лиц с острым инфарктом миокарда статистически значимо: \* – при  $p < 0,05$ , \*\* – при  $p < 0,01$ .

3,4 и 5,2 % случаев, лиц с избыточной массой тела было 60,3 %, с нормой – 27,6 %, с недостаточной массой тела – 1,7 %, с выраженным дефицитом массы тела – ни одного; соотношение: 0 : 2,0 : 3,1 : 35,5 : 16,2 : 1,0 : 0. Среди мужчин, умерших от повторного инфаркта миокарда, лиц с ожирением 3-й и 2-й степени не было, с ожирением 1-й степени встречались в 23,1 % случаев, с избыточной массой тела – 50 %, с нормой – 26,9 %, с недостаточной массой тела и его выраженным дефицитом – 0 %; соотношение: 0 : 0 : 1,0 : 2,2 : 1,2 : 0 : 0. Следовательно, по классификации Кетле среди трупов мужчин, умерших

от острого инфаркта миокарда, реже встречаются лица с ожирением 1-й степени (в 4,4 раза), а среди мужчин, умерших от повторного инфаркта миокарда, значимо чаще.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование выявило конституциональные различия мужчин, умерших от острого и повторного инфаркта миокарда. Среди мужчин, умерших от острого инфаркта миокарда, чаще встречаются лица нормостенического (по классификации Черноуцко) и астенического

(по Рису и Айзенку) типов телосложения, а среди мужчин, умерших от повторного инфаркта миокарда, – гиперстенического, пикнического типов телосложения и с ожирением 1-й степени.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балева Е.С., Кром И.Л., Алешкина О.Ю. Оценка качества жизни, релевантного здоровью, больных ишемической болезнью // Фундам. исслед. 2013. (7). 511–13.
2. Боева О.И., Ягода А.В., Коцеева Е.А. Конституционно-генетическая модель повышенного риска развития ишемической болезни сердца // Кардиоваскуляр. терапия и профилактика. 2007. (4). 25–29.
3. Горбунов Н.С., Чикун В.И., Мишанин М.Н., Мишанина И.А. Женский живот (формы, размеры, изменчивость). Красноярск, 2004. 125 с.
4. Горбунов Н.С., Чикун В.И., Мишанин М.Н. Региональные особенности определения типа телосложения мужчин // Морфол. ведомости. 2008. 1. (1-2). 148–149.
5. Мартиросов Э.Г., Николаев Д.В., Руднев С.Г. Технологии и методы определения состава тела человека. М.: Наука, 2006. 148 с.
6. Николенко В.Н., Головачева Т.В., Петрова В.Д., Якимова Н.С. Клинические проявления острого инфаркта миокарда у мужчин различных типов телосложения // Соврем. наукоемк. технологии. 2008. (5). 45.
7. Петрова М.М., Штарик С.Ю., Романова И.В. Конституциональные и клинические параллели у больных инфарктом миокарда // Биомедицинские и биосоциальные проблемы интегративной антропологии: сб. мат. конф. СПб., 1999. 2. 260–262.
8. Филимонов С.Н., Горбатовский Я.А., Лотош Е.А. Значение роста человека для оценки предрасположенности или устойчивости к развитию инфаркта миокарда // Актуальные вопросы биомедицинской и клинической антропологии: мат. междунар. конф. Томск, 1996. 96–97.
9. Черноруцкий В.М. Учение о конституции в клинике внутренних болезней // Тр. 7-го съезда рос. терапевтов. Л., 1925. 304–312.
10. Шевкуненко В.Н., Геселевич А.М. Типовая анатомия человека. Л., 1935. 232 с.
11. Rees L.A., Eisenck H.J. Factorial study of some morphological aspects of human constitution // J. Mental. Sci. 1945. 91. (383). 8–21.
12. Tanner J.M. Physical development // Brit. Med. Bull. 1986. 42. (2). 131–138.

## **FEATURES OF THE CONSTITUTION OF THE MEN DIED OF THE MYOCARDIAL INFARCTION**

**Nikolay Stanislavovich GORBUNOV, Dmitriy Nikolaevich GORBUNOV,  
Andrey Nikolaevich RUSSKIKH, Sergey Viktorovich ARKHIPKIN,  
Anna Dmitrievna SHABOKHA**

*Krasnoyarsk State Medical University n.a. V.F. Voyno-Yasenetsky of Minzdrav of Russia  
660022, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka str., 1*

---

The purpose of research is revealing constitutional features of corpses of men of the second period of the mature age, died of acute and repeated myocardial infarction. **Material and methods.** Anthropometric study of 84 corpses of men of the II period of adulthood (36–60 years), died of acute and repeated myocardial infarction was carried out with the definition of the body type according to Shevkunenko, to Chernorutskii, to Rees and Eisenk, definition of sexual dimorphism according to the Tanner index, definition of abdomen shape according to Zhukov, definition of body type according to Quetelet and body density according to Rohrer. **Results.** Among the men who died from acute myocardial infarction, there are more persons of normostenic (according to Chernorutsky) and asthenic (according to Rees and Eisenk) constitution types, and among men who died from repeated myocardial infarction, there are more persons of hypersthenic, picnic type and with obesity of 1 degree.

---

**Key words:** corpses of men, body types, acute and repeated myocardial infarction.

*Gorbunov N.S. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for operative surgery with topographic anatomy, e-mail: gorbunov\_ns@mail.ru*

*Gorbunov D.N. – candidate of medical sciences, assistant of the chair and clinic of cardiovascular surgery, e-mail: Dr\_gorbunov@mail.ru*

*Russkikh A.N. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair for the operative surgery with topographic anatomy, e-mail: chegevara-84@mail.ru*

*Arkhipkin S.V. – head teacher, senior teacher of the chair for operative surgery with topographic anatomy, e-mail: sergey1510@ya.ru*

*Shabokha A.D. – candidate of medical sciences, senior lecturer of the chair for operative surgery with topographic anatomy, e-mail: tat\_yak@mail.ru*

## СКОЛИОТИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ: 50-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ИССЛЕДОВАНИЙ

Алла Михайловна ЗАЙДМАН, Михаил Анатольевич САДОВОЙ,  
Елена Леонидовна СТРОКОВА

Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

Несмотря на многовековую историю существования идиопатического сколиоза (ИС), этиологический фактор патологии остается неизвестным. В представленной работе впервые показано, что асимметрия роста и формирование деформации позвоночника связаны с нарушением фенотипа клеток пластинок роста (ПР) тел позвонков больных ИС. Цель исследования – идентификация генофенотипа клеток ПР тел позвонков больных ИС. **Материал и методы.** Клетки выделены из ПР тел позвонков с выпуклой и вогнутой сторон деформации у 50 оперированных больных с ИС, подвергнуты культивированию. Культивированные клетки были идентифицированы с помощью морфологических, нейроморфологических, иммуногистохимических методов и ПЦР анализа. **Результаты.** Клетки выпуклой стороны деформации идентифицированы как хондробласты. Клетки, выделенные из пластинок роста вогнутой стороны деформации, охарактеризованы как нейро- и глиобласты. Клетки формировали синапсы, содержали нейрофиламенты, экспрессировали нейральные и глиальные белки соответственно. На основании полученных результатов исследования предложены гипотезы трактовки клинических вариантов течения ИС. Рассмотрены возможные причины локализации клеток нейрального генеза на вогнутой стороне деформации. **Заключение.** Эктопическая локализация клеток производных нервного гребня в ПР тел позвонков является этиологическим фактором сколиотической болезни.

**Ключевые слова:** сколиоз, пластинка роста, нервный гребень, экспрессия белков, нейрофиламенты, синапсы, хондрциты.

История исследования сколиотической болезни уходит в глубокую древность. В V веке до н.э. Гиппократ впервые описал деформацию позвоночника: «изуродованное тело больного напоминает корявый древесный ствол с могучими ветвями – сильными руками и ногами и безобразным горбом». Гиппократ пытался понять механизм развития сколиоза путем наблюдения за больными, фиксируя на папирусе изменения в позвоночнике; по существу, это были первые истории болезни. В описаниях Гиппократ пытался ответить на вопросы: почему у одних больных «искривления» в верхних отделах позвоночника, а у других – в нижних, пытался найти причину «изуродованного позвоночника». Он впервые высказал предположение о семейной зависимости идиопатического сколиоза (ИС) – «признаки болезни заметны у дочери, но причины следует искать у матери» [7]. Методы лечения, применяемые Гиппократом, – это система гимнастики,

водные процедуры – «горячие термы», смягчающие мышцы. С целью профилактики легочных осложнений предлагалось громкое пение и дыхательные упражнения. Грубые формы деформации лечили при помощи вытяжения на основе тяг и протivotяг. Из древности в обиход вошла замечательная «триада» Галена – «лордоз, кифоз и сколиоз», которая применяется ортопедами и в наши дни.

В эпоху Ренессанса были сделаны анатомические описания позвоночника (Рафаэль Санти, Альбрехт Дюрер, Мишель де Монтень, Микеланджело Буонарроти), но только Леонардо да Винчи подробно представил данные о строении и кровообращении позвоночника, систему мышц и сухожилий, что стало основой для дальнейших научных построений. На рисунках художника были изображены изменения позвоночника при движении тела. В этот период Гарвей провозгласил: «всякое исследование следует выводить из

*Зайдман А.М.* – д.м.н., проф., главный научный сотрудник, руководитель функциональной группы патоморфологии и теоретических исследований в вертебурологии лабораторно-экспериментального отдела, e-mail: AZaydman@niito.ru

*Садовой М.А.* – д.м.н., проф., директор института

*Строчкова Е.Л.* – научный сотрудник функциональной группы патоморфологии и теоретических исследований в вертебурологии лабораторно-экспериментального отдела



его причины и, главным образом, из материальной действующей причины». В течение последующих столетий предпринимались попытки найти первопричину деформации позвоночника – этой тяжелой патологии, приводящей не только к косметическому дефекту, но и к нарушению функций дыхательной, сердечно-сосудистой систем. Возникали новые гипотезы (рахитическая [12], неврогенная [1], метаболическая [11], мышечная [3] и др.), на основе которых предлагались методы лечения, но сколиоз по-прежнему оставался «крестом ортопедии». Все гипотезы базировались в основном на анализе данных рентгенологии и макроморфологии. Морфологических сведений о структурных изменениях позвоночника при ИС в те времена еще не было.

Поиск этиологического фактора развития ИС был нами предпринят методом исследования структурных компонентов позвоночника у оперированных больных с деформациями позвоночника II–IV степени. Этому способствовало расширение спектра оперативных вмешательств на позвоночнике. Это дало возможность впервые получить уникальные данные о структурных изменениях в пластинках роста (ПР) тел позвонков больных ИС II–IV степени. Нами впервые установлено нарушение структуры ПР на вогнутой стороне деформации позвоночника у больных ИС. Известно, что в постнатальном периоде процесс роста продолжается за счет ПР – остатка эмбрионального хряща. В норме в периоды роста происходит пролиферация и дифференцировка хондробластов до полного остеогенного закрытия ПР. При сколиотической болезни эта закономерность оказалась нарушенной. Исследование показало, что в ПР на вершине вогнутой стороны деформации [6] локализовались малодифференцированные хондробласты, которые не проходили соответствующих стадий дифференцировки, пролиферации, остеогенеза, следовательно, не генерировали процесс роста [6]. На выпуклой стороне деформации процессы роста соответствовали возрастной норме. Причина асимметрии роста – в структурных изменениях ПР на вогнутой стороне деформации. Несостоятельно объяснение этого процесса неравномерной нагрузкой на выпуклую и вогнутую стороны деформации, потому что и на ранних стадиях сколиоза, и при грубых деформациях позвоночника морфологические изменения однотипны [10].

В 60–70 годы XX столетия господствующей стала генетическая теория ИС. С целью определения роли генетических факторов в развитии ИС нами были обследованы семьи алтайской и сибирской популяций, в которых пробанд страдал сколиозом [10]. Последующий сегрегацион-

ный анализ на репрезентативной выборке родословных показал майоргенную зависимость ИС. Это означало, что в отсутствие мутантного гена ИС не развивается [12]. В крови обследованных больных и их родственников исследована возможная мутация гена агрекана – самого представительного протеогликана хрящевой ткани ПР тел позвонков. Выбор гена агрекана был основан на морфологических исследованиях нарушения синтеза сульфатсодержащих протеогликанов хондроцитами ПР при ИС [4]. Исследования, однако, не выявили заинтересованности гена агрекана в этиологии ИС [21]. В последующие годы были созданы модели ИС на животных [2, 5, 15, 16]. Продолжался поиск маркеров этиологического фактора ИС клиническими, морфологическими, биохимическими методами с целью создания возможной доклинической диагностики патологии. Несмотря на эти усилия, оставалась неясна первопричина ИС. Возник вопрос: почему огромное количество репрезентативных генетических исследований не выявило гена/генов, причастных к ИС? На основании многолетних исследований (более 1000 препаратов больных ИС) высказано предположение о нарушении экспрессии генов в клетках ПР тел позвонков больных ИС.

Асимметричное изменение функции хондробластов в органе роста позвоночника – основного патогенетического признака ИС – предположительно могло быть обусловлено нарушением генетической регуляции функционирования клеток. Логично предположить, что асимметрия роста связана с нарушением экспрессии гена/генов, регулирующих процессы, связанные с функционированием хондробластов на вогнутой стороне деформации. С этой целью методом ПЦР в реальном времени предпринято исследование экспрессии основных генов, сопряженных с ростом (*IHH*, *Pax9*, *Sox9*), синтезом матрикса и метаболизмом (*ACAN*, *GUM*, *VCAN*, *COL1*, *COL12*, *HALPNI*), гены сульфатирования и трансмембранного транспорта (*DTDS1*, *CHST1*, *CHST3*) [20]. Тем более что огромное количество генетических исследований крови больных, проводимых на самом высоком методическом уровне, не выявили связи с этиологией ИС. Анализ экспрессии 14 генов в ПР показал, что синтез коровых белков протеогликанов сохранен, но нарушен синтез линк-белка. Функция ростовых транскрипционных факторов, не реагирующих на сигналы пролиферации и дифференцировки, также нарушена. Факторный анализ выявил выраженные отличия фенотипа хондробластов ПР больных ИС от нормы [20]. Возникла необходимость в идентификации фенотипа этих клеток.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Идентификация фенотипов клеток ПР тел позвонков больных ИС производилась методом их культивирования дифференцированно из выпуклой и вогнутой сторон деформации. Основанием для подобного подхода были данные Кнорре о том, что клетки в процессе культивирования проходят ранние стадии дифференцировки [9]. Объектом исследования послужили ПР тел позвонков 50 детей 11–15 лет с ИС III–IV степени, оперированных в клинике детской ортопедии Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии. Образцы забирали в стерильные пробирки, содержащие 0,9%-й физиологический раствор и 20 мкг/мл гентамицина (Микроген). Гиалиновый хрящ ПР отмывали в физиологическом растворе, измельчали в чашке Петри с минимальным объемом среды RPMI (Биолот) до размеров 1–2 мм<sup>2</sup>, затем помещали в раствор 1,5%-й коллагеназы (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) в силиконизированной посуде и культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при температуре 37 °С в течение 22–24 ч. Полученную суспензию клеток пропускали через нейлоновый фильтр для удаления кусочков ткани и осаждали клетки центрифугированием в течение 10 мин при 2000 об./мин.

Выделенные клетки культивировали в среде DMEM F12 (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) с добавлением 15% FBS (эмбриональной телячьей сыворотки) (Gibco), стрептомицина (Биолот), пенициллина (Биолот) и амфотерицина В (Биолот) в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С. В качестве культуральной посуды использовали пластиковые чашки Петри диаметром 60 мм. На дно культуральной посуды укладывали покровные стекла для последующих морфологических исследований. Выделение, посев и культивирование клеток осуществляли дифференцированно в соответствии с указанной высотой и стороной деформации. Клетки культивировали в течение 14 сут, среду меняли 1 раз в трое суток. Клетки не пассировали. Для морфологических исследований клетки извлекали в период от 5 до 21 суток; фиксировали в 70° спирте и окрашивали: гематоксилином, эозином, альциановым синим, по Кохалу и Нисслю.

Для исследований методом электронной микроскопии на 14-е сутки культивирования культуру хондроцитов пассировали смесью растворов трипсина (Биолот) и Версена (Биолот) в соотношении 1:1. Действие веществ инактивировали средой DMEM F12 с добавлением 15 % FBS, стрептомицина, пенициллина и амфотерицина В. Клеточную суспензию центрифугировали 10 мин со скоростью 1 200 об./мин, ресуспендировали в

1 мл среды. В 12-луночном планшете размещали подложки и силиконизированные стерилизованные чипсы (Agar, Германия) для электронной микроскопии (по одной в лунку). Клетки сеяли в концентрации 10 мкл – на подложки и 5 мкл – на чипсы. Адгезию клеток контролировали в течение двух часов. В лунки с чипсами и пленками добавляли по 2 мл среды, оставляли на сутки. Образцы на чипсах для сканирующей электронной микроскопии фиксировали 2,5%-м глутаровым альдегидом, разведенным на среде для культивирования, в течение 15 мин, после чего перенесли в раствор 2,5%-го глутарового альдегида на 0,1М какодилатном буфере и фиксировали в течение часа. После отмывки в двух сменах 0,1М какодилатного буфера образцы фиксировали в 1%-м растворе тетраоксида осмия, приготовленном на дистиллированной воде, отмывали в двух сменах воды, помещали в специальный держатель и дегидратировали, инкубируя по 10 мин в растворах спиртов возрастающей концентрации (30, 50, 70 и 100 %). Затем образцы высушивали по методу критической точки в приборе Critical Point Dryer (BAL-TEC, Лихтенштейн) и исследовали в сканирующем электронном микроскопе (Zeiss, Германия) до и после напыления хромом толщиной 1 нм в атмосфере аргона (Coating Unit, Leica Microsystems, Австрия). Анализ проводили при увеличении × 1000–30000 и ускоряющем напряжении 30kV.

Фиксацию клеток на специальных пластиковых подложках проводили в 2,5 %-м растворе глутарового альдегида на 0,1М какодилатном буфере (pH 7,4) в течение 1 ч, после чего материал отмывали в трех сменах 0,1М какодилатного буфера (pH 7,4). Образцы постфиксировали в 1%-м растворе тетраоксида осмия с добавлением 0,8%-го ферроцианата калия на том же буфере в течение 1 ч. После трехкратного отмывания дистиллированной водой клетки оставляли на ночь в 1%-м водном растворе уранилацетата при температуре 4 °С. На следующий день образцы отмывали водой и обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (по 5 мин в 30- и 50%-м, по 10 мин в 70-, 96- и 100%-м растворах этанола). Затем клетки дополнительно обезвоживали в ацетоне (2 раза по 20 мин) и пропитывали смесью смолы, включающей 4 компонента (Epon 812, DDSA, MNA и DMP-30) по следующей схеме: 1 объем смолы : 2 объема ацетона – 1 ч; 1 объем смолы : 1 объем ацетона – 2 ч; 2 объема смолы : 1 объем ацетона – 2 ч; чистая смола – 2 ч; чистая смола – 1 ч. Далее проводилась заливка образцов в формы из фольги и инкубация в течение ночи в эксикаторе с CaCl<sub>2</sub> (для удаления пузырьков воз-

духа из смолы). Для полимеризации образцы помещались в термостат на +60 °С на 3 сут.

Процедуру иммуногистохимического исследования выполняли в соответствии с рекомендациями производителей антител. Срезы депарафинизировали и производили демаскировку антигенов тканей в модуле PT Link (Dako, Дания) в цитратном буфере (рН 9,0) при температуре 95 °С в течение 60 мин. Затем блокировали эндогенную пероксидазу 3%-м раствором H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, проводили протеиновый блок сывороткой. Далее при температуре 22 °С в течение 30 мин инкубировали срезы ткани и клетки с антителами: кроличьи поликлональными к S100 (Dako), мышинными моноклональными к синаптофизину (клон DAK-SYNAP, Dako), мышинными моноклональными к белку нейрофиламента (NF, клон 2F11, Dako), глиальному фибриллярному кислом белку (GFAP) (клон N1506, rabbit polyclonal, Dako). Все антитела разводили согласно указаниям фирмы-производителя. Для визуализации иммуноморфологической реакции использовали полимерную систему детекции EnVision FLEX Systems (Dako). Последним этапом докрашивали ядра клеток гематоксилином.

Для исследования методом флуоресцентной иммуногистохимии культивированные клетки фиксировали в 4%-м растворе формалина в течение 10 мин, затем отмывали от формалина натрий-фосфатным буфером в течение 10 мин. После отмывки клетки на предметных стеклах держали в 4%-м растворе тритона X100 в течение 15 мин, вновь промывали натрий-фосфатным буфером 30 мин. Гибридизацию проводили раствором бычьего сывороточного альбумина во влажной камере в течение 5–30 мин. Клетки окрашивали первичными антителами к нейрональному β-тубулину класс III и к нейрофиламенту 200 (NF-200). Вторичные антитела, используемые в эксперименте: γ1 green λ 488 и γ2a red λ 568. Ядра подкрашивали DAPI.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

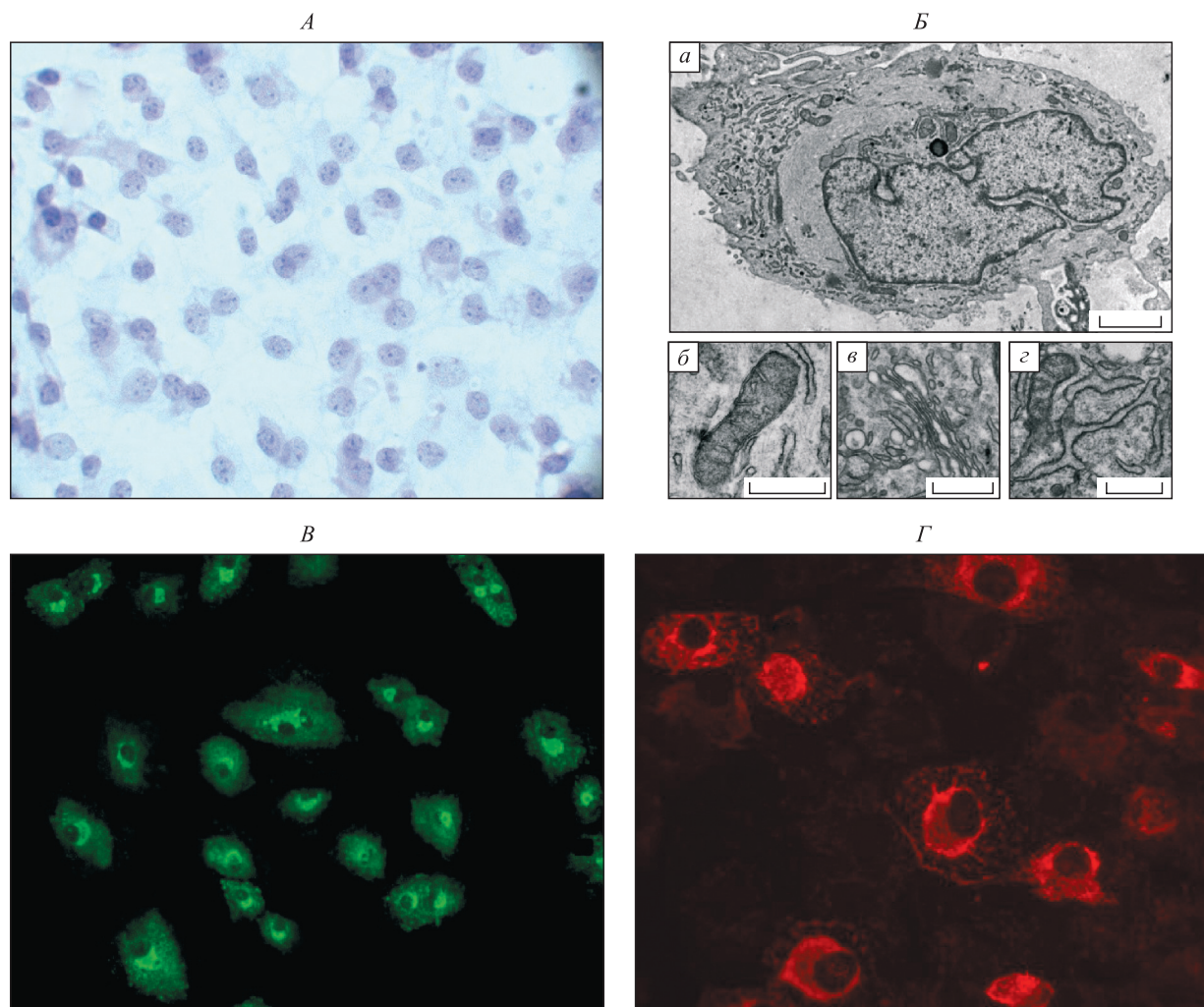
Культивированные клетки, выделенные из наружных отделов ПР на высоте деформации, формировали монослой. Это были крупные округлые клетки с центрально расположенным ядром и 1–2 ядрышками (рис. 1, А). Хроматин был диспергирован. Цитоплазма интенсивно окрашивалась альциановым синим и содержала гранулы гликогена. Ультраструктурно: клетки с центрально-расположенным ядром и с инвагинатами. В цитоплазме комплекс Гольджи с диктосомами и множественными везикулами, расположенными как диффузно, так и вблизи плазматической

мембраны. Митохондрии с хорошо выраженными кристами, эндоплазматическая сеть с расширенными цистернами. Промежуточные филаменты расположены приядерно (рис. 1, Б). Вокруг клеток локализованы коллагеновые волокна и протеогликаны, формирующие контакты с коллагеном. Иммуногистохимически: в клетках наблюдалась экспрессия белков, агрекана, хондроитинсульфатов А и С, коллагенов I и II типов и Sox9 (рис. 1, В, Г). Эти клетки были идентифицированы как хондробласты.

На вогнутой стороне деформации выявлялись клетки двух фенотипов.

**Первый тип** – крупные мульти-, би- и псевдоуниполярные клетки с длинным отростком (аксоном) и ветвящимися короткими дендритами (рис. 2, А). Ядра в этих клетках были центрально расположены, а в цитоплазме клеток определялась субстанция Ниссля (рис. 3, А), экспрессия нейроспецифических белков: NF-1, β-тубулин III, NF-200 (рис. 2, В, Г). Здесь же определялись уни- и биполярные клетки с окаймляющей ядро цитоплазмой, формирующей от обоих полюсов длинные отростки. Между отростками и клетками были сформированы связи. Цитоплазма клеток обнаруживала позитивные реакции со специфическими антителами к клеткам нервного гребня: β-тубулину III, NF-200.

**Ультраструктура (трансмиссионная микроскопия).** Клетки имели вогнутую форму с крупным округлым ядром и 1–2 ядрышками. От тела клетки отходил длинный аксон, на котором локализовались множественные аксонные холмики в виде выпячивания мембраны. Шипики (аксонные холмики) содержали вакуоли в виде светлых пузрырьков. Между аксонами и сомой клеток обнаруживались контакты – формирующиеся синапсы. По обе стороны синаптических мембран определялись вакуоли. В цитоплазме содержались гранулярные структуры, возможно, белковые включения. Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) с плотным матриксом и узкими, удлинненными цистернами. Митохондрии характерной вытянутой формы с тонкими разветвленными кристами. Широко представлен аппарат Гольджи с диктосомами и вакуолями (рис. 2, Б). В отростках клеток располагались нейрофиламенты и стопки шероховатого ЭПР, подобного тельцам Ниссля. Наличие формирующихся синапсов с вакуолями в пресинаптической мембране и экспрессия нейральных белков и нейрофиламентов в цитоплазме клеток явились аргументом в пользу нейрального генеза этих клеток. Кроме того, на поверхности отростков и на телах клеток определялись аксонные холмики «шипики», содержащие вакуоли.



**Рис 1.** А – монослой культивированных хондробластов (выпуклая сторона деформации позвоночника). Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $10 \times 60$ . Б – ультраструктура хондробласта с выпуклой стороны ПР тела позвонка на вершине деформации большого ИС: а – общий вид клетки, содержащей ядро с инвагинациями и большое скопление промежуточных филаментов в цитоплазме; б, в – митохондрии с короткими поперечными кристами; узкие (б) и расширенные (в) цистерны шероховатого ЭПР; з – диктиосомы аппарата Гольджи; масштаб: а – 2 мкм, б–з – 0,5 мкм. В, Г – иммуногистохимическая реакция на collagen I типа (В, зеленый), агрекан (Г, красный)

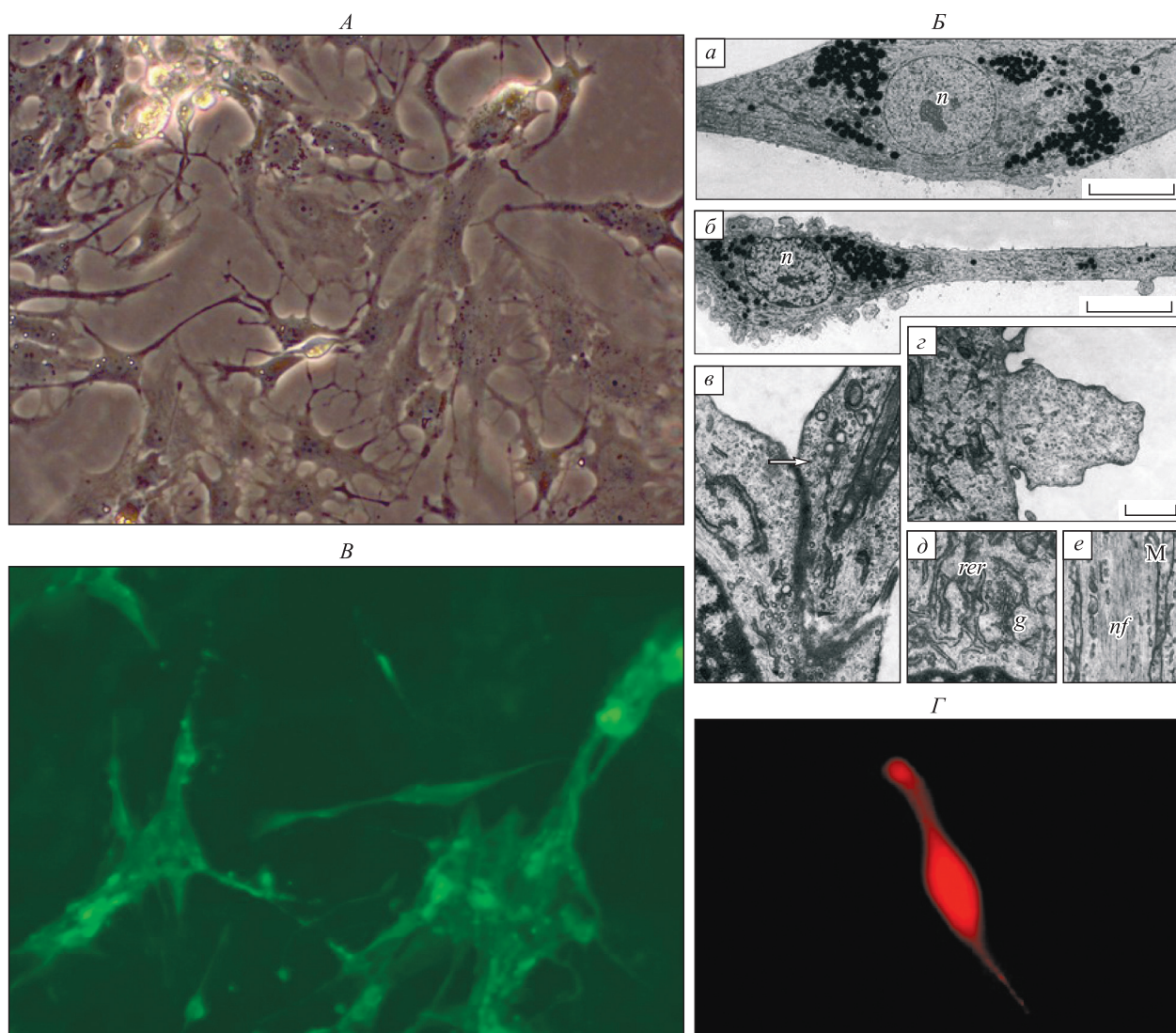
**Второй тип** – крупные клетки с центрально-расположенными ядрами и многочисленными разветвленными отростками на мембранах. В цитоплазме этих клеток наблюдалась экспрессия белка астроцитарной глии S100. Здесь же обнаруживались овальные клетки с длинными цитоплазматическими отростками, формирующими многочисленные контакты. Цитоплазма клеток позитивно окрашивалась по Гомери и Кохалу. Реакция с антителами на глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) была положительной (рис. 3, Б). На электронограммах: многоотростчатые клетки, за счет которых сформированы многочисленные связи. ЭПР широко представлен. Аппарат Гольджи с многочисленными везикулами и экзоцитозными пузырьками. В мито-

хондриях широкие кристы и плотный матрикс. Нейрофиламенты в цитоплазме отсутствуют, но определяется большое количество филаментов.

**Сканирующая электронная микроскопия.** На вогнутой стороне деформации определялись клетки вытянутой формы с длинными отростками, образующие контакты. Между клетками сформирован синапс и крупный «шипик». Многочисленные «шипики» на отростках нейронов (не напыленный препарат) (рис. 3, В).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

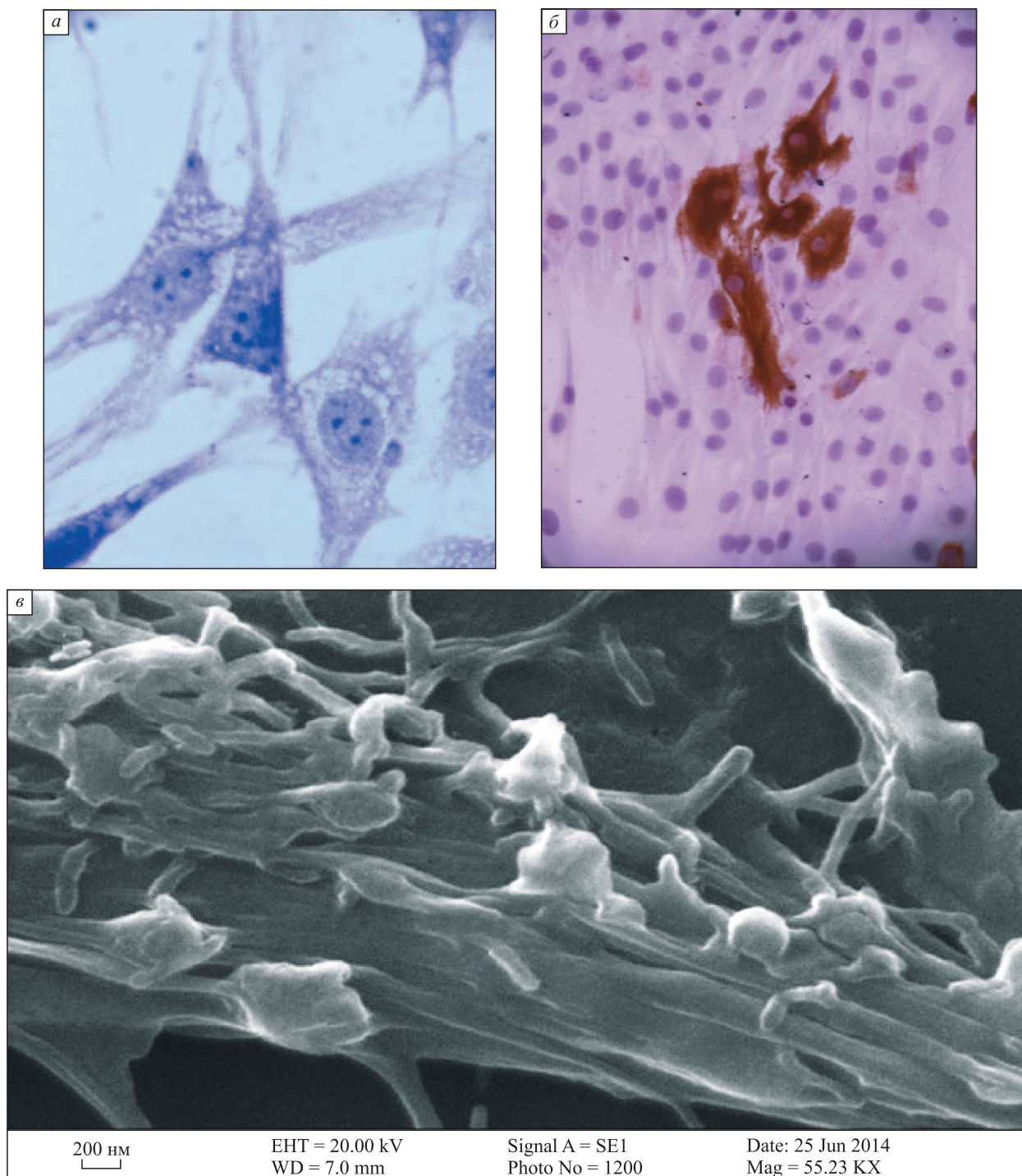
Идентификация фенотипов клеток ПР выпуклой и вогнутой сторон деформации больших ИС показала, что на выпуклой стороне де-



**Рис. 2.** А – клетки нейрального генеза в культуре клеток вогнутой стороны (нативный препарат, ув. 10 × 40). Б – микрофотография культивируемых клеток, выделенных из ПР тел позвонка (вогнутая сторона вершины деформации) больного ИС: а, б – нейроноподобные клетки вытянутой формы и длинным отростком (аксоном), многочисленные электронно-плотные гранулы вокруг ядер (n) и в цитоплазме клеток, формирующиеся на аксонах шипики; в – формирующийся контакт между отростком одной клетки и телом другой, многочисленные везикулы в месте контакта (стрелка); г – шипики, формирующиеся на теле и отростках клеток; д – фрагмент цитоплазмы одной из клеток культуры с развитым шероховатым ретикулумом (rer) и комплексом Гольджи (g); е – фрагмент аксона с обширной сетью нейрофиламентов (nf), пронизывающих отростки клеток, а также вытянутые митохондрии (M). Масштаб: а, б – 10 мкм, в–е – 1 мкм. Иммуногистохимические реакции на нейральные антитела в культивируемых клетках вогнутой стороны деформации позвоночника (ИС): В – NF 200 (зеленый), Г – β-тубулин III (красный)

формации локализуются клетки мезенхимального генеза – хондробласты, на вогнутой – клетки нейрального генеза: нейро- и глиобласты, производные нейроэктодермы. Об этом свидетельствуют нейроморфологические данные – ультраструктурная организация клеток, экспрессия тканеспецифических белков и протеогликанов. Наличие нейральных клеток в ПР больных ИС выявлено нами впервые. В доступной мировой литературе подобных данных не обнаружено.

Естественный вопрос: каким образом клетки нейрального генеза оказались в мезенхимном производном ПР тела позвонка? Обратимся к эмбриологии. На ранних стадиях эмбриогенеза (гастрюляции) от нервной трубки отделяются клетки нервного гребня, которые мигрируют по эмбриону и в конечном итоге формируют вегетативную нервную систему, мозговое вещество надпочечников, ганглии, лицевой скелет и т.д. [8]. Миграция клеток нервного гребня осуществляет-



**Рис. 3.** а – культура клеток (ИС, вогнутая сторона на вершине деформации); окраска по Нислю, ув.  $\times 400$ ; б – иммуногистохимические реакции на глиальный фибриллярный кислый белок, ув.  $\times 200$ ; в – сканирующая микроскопия. Нейроны в культуре клеток, полученной из ПР тела позвонка (вогнутая сторона вершины деформации) больного ИС (не напыленный препарат). Сформированные контакты между двумя клетками. Виден также синапс и крупный шипик. В цитоплазме нейронов, а также в отростках присутствуют небольшие плотные гранулы от 300 до 500 нм в диаметре. Масштабная линейка составляет 200 нм

ся по трем путям, один которых проходит через склеротом [9]. На выходе из склеротома клетки нервного гребня формируют чувствительные ганглии.

Наличие клеток нервного гребня в ПР вогнутой стороны деформации больных ИС вызвало вопрос о возможных нарушениях миграции и «депонировании» клеток нервного гребня в формирующемся позвоночнике. Известно, что траектория движения клеток нервного гребня осуществляется по субстрату, синтезируемому клетками склеротома под влиянием экспрессии гена *Pax3* [14]. Поэтапный синтез версиканов определяет поступательное движение клеток нервного гребня. В процессе движения клеток нервного гребня происходит асимметричный синтез индукторов (версиканов) и ингибиторов (агрекана), что определяет траекторию их движения [18]. Ингибирование агреканами обусловлено ограничением диспергирования клеток нервного гребня за счет боковых цепей гликозаминогликана агрекана [19]. Клетки нервного гребня в процессе миграции индуцируют в склеротоме процесс хондрогенеза, его удаление [13] приводит к формированию уродливого ганглия, что свидетельствует об определенной взаимозависимости морфогенеза позвоночника и ганглиогенеза [20]. Существующий тропизм этих двух структур ставит вопрос о степени нарушения функции чувствительных ганглиев при ИС. Эти данные могут быть диагностическим признаком ИС, особенно на ранних стадиях формирования деформации позвоночника.

Ингибирование миграции клеток нервного гребня может быть связано с мутацией гена *Pax3* и нарушением синтеза версиканов вдоль миграционного пути. Подобные предположения базируются на исследованиях Knull [15]: нарушение секреции версиканов приводит к остановке миграции клеток нервного гребня. Необходимо выяснить, каким образом на вогнутой стороне деформации определяются малодифференцированные хондроциты. Известно, что клетки нервного гребня в зонах конечной миграции приобретают фенотип клеток среды, в которую они мигрируют, но генотип остается исходным [17]. Клетки нервного гребня, находясь в ПР вогнутой стороны деформации, не детерминированы к процессу роста. Продолженный рост по выпуклой стороне деформации позвоночника приводит к асимметрии роста.

Анализ дифференцированного культивирования клеток ПР тела позвонков 50 больных ИС позволил выявить причины нарушения роста и формирования деформации позвоночника при ИС и предложить гипотезу, объясняющую вари-

анты клинических проявлений ИС, дать определение сколиотической болезни. Сколиотическая болезнь – нарушения морфогенеза позвоночника в раннем эмбриогенезе, реализуемые на стадии роста в сколиотическую болезнь с клиническими вариантами течения, зависящими от степени нарушения морфогенеза.

Вариабельность клинических вариантов деформации позвоночника при ИС до сих пор не находила объяснений. Известно, что существует две группы сколиотической болезни: одна из них прогрессирует, а вторая остается на стадии сколиотической осанки. На основании настоящих исследований можно заключить, что процесс прогрессирования определяется количеством депонированных в склеротоме клеток, так как их критическое количество определяет степень последующего нарушения морфогенеза позвоночника и формирования соответствующей клинической формы сколиоза.

До сих пор остается необъясненным клиническое проявление преимущественно правосторонней грудной деформации позвоночника при ИС. Наша гипотеза: так как миграция клеток нервного гребня происходит на стадии формирования четырех грудных сомитов в растрально-вентральной части склеротома, то нарушение движения и депонирования клеток в этом отделе реализуется в процессе роста в правостороннюю грудную деформацию позвоночника при ИС. Приоритет развития ИС у девочек, вероятнее всего, связан с разными временными параметрами миграции клеток нервного гребня и формирования склеротома у мальчиков и девочек.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, этиологическим фактором сколиотической болезни является эктопическая локализация клеток, производных нервного гребня, в ПР тел позвонков, генетически не детерминированных к хондрогенной дифференцировке и процессу роста. Локальное нарушение хондрогенеза в ПР тел позвонков больных ИС является причиной асимметрии роста и формирования деформации позвоночника. В настоящее время создается экспериментальная модель деформации позвоночника, на которой будут подтверждены или отвергнуты представленные гипотезы.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность за многолетнее сотрудничество и ценные советы при выполнении исследований – Бородину Павлу Михайловичу, Серову Олегу Леонидовичу, Аксе-

нович Татьяне Иосифовне; за помощь в проведении ультраструктурных исследований – Киселевой Елене Владимировне.

Исследования проводились в рамках комплексных НИР Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абальмасова Е.А., Левая Н.В. Сколиоз и кифоз // Актуальные вопросы травматологии и ортопедии. М., 1977. 19. 7–12.
2. Агафонов Ю.А. Экспериментальный сколиоз // Ортопедия, травматология и протезирование. 1978. 12. 1–7.
3. Вреден Р.Р., Козловский А.А. Сколиоз или боковое искривление позвоночника // Практическое руководство по ортопедии. Л., 1936. 347–368.
4. Зайдман А.М. Идиопатический сколиоз. Морфология, биохимия, генетика. Новосибирск, 1993.
5. Зайдман А.М., Фалк И.Г. Исследование структур позвоночника при некоторых гормональных воздействиях // Патология позвоночника. Л., 1976. 112–114.
6. Зайдман А.М. Молекулярно-генетические механизмы развития сколиоза // Мат. Европейского конгр. ревматологов. Сочи, 1987. 52–54.
7. История медицины / ред. Б.Д. Петров. М., 1954. 1. 64 с.
8. Карлсон Б.М. Основы эмбриологии по Пэттену. М., 1983.
9. Кнорре А.Г. Эмбриональный гистогенез. Л., 1971.
10. Цивьян Я.Л., Зайдман А.М. Морфогенез сколиоза. Новосибирск: Наука, 1978. 141 с.
11. Чаклин В.Д. К хирургии позвоночника // Ортопедия, травматология и протезирование. 1960. (7). 3–13.
12. Axenovich T.I., Zaidman A.M., Zorkoltseva I.V., Tregubova I.L., Borodin P.M. Segregation analysis of idiopathic scoliosis, demonstration of a major gene effect // Am. J. Med. Genet. 1999. 86. (4). 389–394.
13. Bundy J., Rogers R., Hoffman S., Conway S.J. Segmental expression of aggrecan in the non-segmented perinotochordal sheath underlies normal segmentation of the vertebral column // Mech. Dev. 1998. 79. (1-2). 213–217.
14. Henderson D.J., Ybot-Gonzalez P., Copp A.J. Over-expression of the chondroitin sulphate proteoglycan versican is associated with defective neural crest migration in the Pax3 mutant mouse (splotch) // Mech. Dev. 1997. 69. (1-2). 39–51.
15. Krull C.E. Inhibitory interactions in the patterning of trunk neural crest migration // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1998. 857. 13–22.
16. Krull C.E., Collazo A., Fraser S.E., Bronner-Fraser M. Segmental migration of trunk neural crest: time-lapse analysis reveals a role for PNA-binding molecules // Development. 1995. 121. (11). 3733–3743.
17. Martin J.F. Expression of Cre Recombinase in the developing mouse limb bud driven by Prs1 enhancer // Genesis. 2002. 33. (2). 77–80.
18. Peris R., Perissinotto D. Role of the extracellular matrix during neural crest cell migration // Mech. Dev. 2000. 95. 3–21.
19. Pettway Z., Domowicz M., Schwartz N.B., Bronner-Fraser M. Age-dependent inhibition of neural crest migration by the notochord correlates with alterations in the S103L chondroitin sulfate proteoglycan // Exp. Cell Res. 1996. 255. 195–206.
20. Zaidman A.M., Zaidman M.N., Strokova E.L., Lebedeva A.O., Laktionov P.P., Sadovoy M.A. Analysis of expression of candidate genes – an etiologic factor of idiopathic scoliosis // PLOS One. In Press.
21. Zorkol'tseva I.V., Liubinskiy O.A., Shari-pov R.N., Zaidman A.M., Aksenovich T.I., Dymshits G.M. Analysis of polymorphism of the number of tandem repeats in the aggrecan gene exon G3 in the families with idiopathic scoliosis // Rus. J. Genetics. 2002. 38. (2). 259–263.



## **SCOLIOSIS: A 50-YEAR EXPERIENCE OF RESEARCH**

**Alla Mikhaylovna ZAYDMAN, Mikhail Anatolyevich SADOVOY, Elena Leonidovna STROKOVA**

*Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan  
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

---

Despite the centuries-old history of the existence of idiopathic scoliosis, the etiologic factor of the pathology remains unknown. In the presented work it is shown for the first time that the asymmetry of growth and the formation of spinal deformity is associated with the phenotype violation of the growth plate cells of vertebral bodies in patients with idiopathic scoliosis. **Objective:** to identify the gene phenotype of the growth plate cells of the vertebral bodies in patients with idiopathic scoliosis. **Material and methods.** The cells were isolated from vertebral body growth plates on convex and concave sides of deformity in 50 operated patients with idiopathic scoliosis, and cultured. Cultured cells were identified by methods of morphology, neuromorphology, immunohistochemistry and PCR analysis. **Results.** The growth plate cells from the convex side of deformity were identified as chondroblasts. Those cells from the concave side were identified as neuro- and glioblasts. These cells formed synapses, contained neurofilaments, and expressed neural and glial proteins, respectively. Based on the results of the study, hypotheses were proposed on variations of clinical course of idiopathic scoliosis. Probable causes of localization of neural genesis cells on the concave side of the deformity are discussed. **Conclusion.** Ectopic localization of the neural crest-derived cells in the vertebral body growth plate is the etiological factor of scoliotic disease.

---

**Key words:** scoliosis, the growth plate, neural crest, protein expression, neurofilament, synapses, and chondrocytes.

*Zaydman A.M. – doctor of medical sciences, professor; honored worker of science, chief researcher, head of the functional groups of pathomorphology and theoretical studies in spine surgeries of the laboratory-experimental department, e-mail: AZaydman@niito.ru*

*Sadovoy M.A. – doctor of medical sciences, professor, director*

*Strokova E.L. – researcher of the functional groups of pathomorphology and theoretical studies in spine surgeries of the laboratory-experimental department*

**ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ У ЛИЦ С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА И ОЖИРЕНИЕМ****Ираида Георгиевна МОХОВА, Борис Борисович ПИНХАСОВ,  
Вера Георгиевна СЕЛЯТИЦКАЯ***НИИ экспериментальной и клинической медицины  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

Цель работы: исследовать особенности нарушений пищевого поведения и их взаимосвязи с нутриентным составом пищи у мужчин и женщин с избыточной массой тела и ожирением. **Материал и методы.** Обследовано 246 человек, из них 90 мужчин и 156 женщин с избыточной массой тела и ожирением; проведено антропометрическое обследование, анализ пищевых дневников, тип нарушений пищевого поведения (ПП) определен с использованием опросника DEBQ. **Результаты и их обсуждение.** Выраженность всех типов нарушений ПП и частота их клинически значимых случаев, а также частота комбинированных форм у женщин больше, чем у мужчин. Показано, что нарушения ПП определяют нутриентный состав пищи, при этом если эмоциогенное и компульсивное ПП в большей степени связаны с потреблением углеводов, то экстернальное ПП – с потреблением жирной пищи. Нарушения ПП в виде синдрома ночной еды встречаются чаще у мужчин, чем у женщин, и превалируют у лиц с андронидным типом ожирения. Обоснована гипотеза о том, что потребление пищи в вечерние или ночные часы необходимо для повышения уровня серотонина, который оказывает снотворный, антидепрессивный и анксиолитический эффекты.

**Ключевые слова:** мужчины, женщины, избыточная масса тела, ожирение, нарушения пищевого поведения, синдром ночной еды, нутриенты.

Ожирение относят к полиэтиологическим заболеваниям, однако наиболее часто встречается первичное ожирение алиментарно-конституциональной природы, в основе которого лежит преобладание поступления и/или выработки энергии в организме над ее расходом. Исследование спектра причин и факторов, приводящих к набору массы тела при алиментарно-конституциональном ожирении, указывает на ведущую роль в этом процессе нарушений пищевого поведения (ПП) [7, 9]. Известно также, что у лиц с ожирением в ряде случаев присутствуют определенные нарушения в психической сфере, которые оказывают значительное влияние на формирование стереотипа ПП и прогрессирование ожирения [10].

Потребность в питании имеет сложный характер, поскольку, потребляя пищу, человек удовлетворяет не только физиологическую, но также физическую, психоэмоциональную, компенсаторную, адаптивную потребности и т.д. [11, 16]. Состояния голода и насыщения имеют диаметрально противоположные психоэмоциональные проявления. Если голод имеет негативную

окраску и сопровождается раздражительностью, повышенной двигательной активностью, агрессией, тревогой и т.д., то насыщение приносит целую гамму положительных эмоций – расслабление, спокойствие, радость [3]. Такие реакции были прочно закреплены в ходе эволюционного процесса, при этом, чтобы обеспечить запас энергии на критические случаи, были сформированы механизмы запасания энергии в виде жира и экономного его расходования в период недостаточного поступления пищи. Однако в современную эпоху «изобилия», гиподинамии и повышенных психоэмоциональных нагрузок эффект пищи сравним с действием наркотических веществ. Пища проявляет свойства аддиктивного агента, к которому может формироваться зависимость. Получены результаты, подтверждающие сходство формирования химической и пищевой зависимости [6]. Во время стресса человек чаще выбирает аппетитную пищу, которая богата жирами и/или простыми сахарами, обычно это фаст-фуд, закуски и очень калорийная пища, которая потребляется даже при отсутствии голода [12]. При этом

*Мохова И.Г. – аспирант лаборатории эндокринологии, e-mail igmokhova@gmail.com*

*Пинхасов Б.Б. – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории эндокринологии, e-mail: pin@centercem.ru*

*Селятицкая В.Г. – д.б.н., проф., главный научный сотрудник лаборатории эндокринологии,  
e-mail: csem@centercem.ru*

во многом остается неясным, чем определяются те или иные пищевые предпочтения и как они ассоциированы с нарушениями ПП у лиц разного пола.

Целью настоящей работы было исследовать особенности нарушений пищевого поведения и их взаимосвязи с нутриентным составом пищи у мужчин и женщин с избыточной массой тела и ожирением.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 246 человек, из них 90 мужчин и 156 женщин, средний возраст составил  $40,2 \pm 12,4$  и  $42,6 \pm 13,2$  года соответственно. Проведение исследования одобрено локальным Комитетом по биомедицинской этике и соответствовало этическим стандартам, разработанным в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и приказами Минздрава РФ. С пациентами проводили беседу, объясняющую цель и задачи исследования; от них было получено информированное согласие на участие в исследовании. Критериями включения в исследование были избыточная масса тела и первичное ожирение алиментарно-конституциональной природы, критериями исключения – первичное ожирение с нарушениями углеводного обмена в виде сахарного диабета 2 типа и вторичное ожирение.

Проводили антропометрическое обследование, включая измерение массы тела (МТ), роста стоя, обхватов талии (ОТ) и бедер (ОБ); рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) как отношение массы тела (кг) к росту в квадрате ( $m^2$ ). В группе мужчин ИМТ составил  $35,6 \pm 6,2$   $kg/m^2$ , в группе женщин –  $32,2 \pm 4,3$   $kg/m^2$ . Вычисляли отношение ОТ/ОБ, на основании величины которого выделяли гиноидный тип ожирения при  $ОТ/ОБ < 0,95$  у. е. у мужчин и  $ОТ/ОБ < 0,85$  у. е. у женщин, и андроидный тип ожирения при  $ОТ/ОБ \geq 0,95$  у. е. и  $ОТ/ОБ \geq 0,85$  у. е. у мужчин и женщин соответственно. Абсолютное содержание жира в организме, а также его относительное количество измеряли методом импедансометрии с помощью прибора фирмы «OMRON» (Япония). Пищевые дневники, содержащие сведения о фак-

тическом питании больных в домашних условиях, анализировали с использованием специализированной компьютерной программы «Соматоник» (свидетельство об официальной регистрации в Роспатенте программы для ЭВМ № 2007614197 от 03.10.2007).

Оценивали кратность приема пищи, потребление основных пищевых нутриентов, калораж пищи. Для определения типа нарушения ПП и оценки его выраженности в баллах использовали опросник DEBQ, включающий четыре независимые анкеты. По числу баллов в анкете также выявляли клинически значимые случаи нарушения ПП. За граничные значения, превышение которых указывало на наличие клинически значимого нарушения ПП, принимали следующие величины в баллах: для эмоциогенного – 2,03, компульсивного – 2,60, экстернального – 2,68, ограничительного – 2,43 балла [18]. Синдром ночной еды (СНЕ) выставляли на основании триады симптомов: вечерняя и ночная гиперфагия, анорексия в утренние часы, инсомния [17].

Результаты в таблицах и тексте указывали как среднее арифметическое  $\pm$  среднеквадратичное отклонение ( $M \pm SD$ ). Для оценки межгрупповых различий использовали непараметрические (Манна – Уитни,  $\chi^2$ ) критерии; для характеристики зависимости параметров применяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r$ ). Минимальную вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5%-м уровне значимости ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты определения выраженности разных типов нарушений ПП у обследованных мужчин и женщин с избыточной массой тела и ожирением. Оказалось, что выраженность всех типов нарушений ПП в баллах у женщин достоверно выше относительно мужчин, что согласуется с исследованиями других авторов [8, 13].

Частота встречаемости клинически значимых случаев нарушений ПП также была выше у женщин. Клинически значимое эмоциогенное ПП

Таблица 1

Выраженность нарушений пищевого поведения в группах мужчин и женщин, баллы

Пищевое поведение	Мужчины (n = 90)	Женщины (n = 156)	p
Эмоциогенное	$0,98 \pm 0,95$	$1,23 \pm 0,85$	0,03
Компульсивное	$1,63 \pm 0,91$	$1,94 \pm 0,95$	0,01
Экстернальное	$2,15 \pm 0,70$	$2,37 \pm 0,73$	0,02
Ограничительное	$1,71 \pm 1,01$	$1,97 \pm 0,79$	0,04

Таблица 2

Анализ пищевых рационов в группах мужчин и женщин

Показатель	Мужчины (n = 69)	Женщины (n = 181)	p
<b>Калорийность:</b>			
завтрак, ккал	592,5 ± 410,0	410,0 ± 255,1	0,000
обед, ккал	1020,2 ± 489,8	707,3 ± 346,7	0,000
ужин, ккал	1255,8 ± 632,8	811,7 ± 343,0	0,000
дополнительные приемы пищи, ккал	454,4 ± 391,0	439,7 ± 360,5	0,98
ночной прием, ккал	937,6 ± 627,2	467,9 ± 203,3	0,005
всего, ккал	3220,5 ± 1120,6	2332,5 ± 804,8	0,000
<b>Содержание основных нутриентов:</b>			
всего белков, г	126,0 ± 49,5	82,5 ± 28,7	0,000
всего жиров, г	167,1 ± 62,6	119,8 ± 52,9	0,000
всего углеводов, г	303,2 ± 131,2	231,5 ± 94,6	0,000
всего белков, %	15,9 ± 3,8	14,7 ± 4,2	0,05
всего жиров, %	46,7 ± 8,1	45,2 ± 9,4	0,25
всего углеводов, %	37,3 ± 8,2	40,6 ± 9,4	0,04

выявлено у 21,1 % женщин и у 13,3 % мужчин ( $\chi^2 = 2,34; p = 0,126$ ). Данный тип нарушений ПП свойственен лицам с пищевой аддикцией. Согласно гипотезе маскировки, люди часто используют переедание для маскировки стресса в различных сферах своей жизни [19]. Частота встречаемости этого типа нарушений пищевого поведения, по данным разных авторов, в РФ варьирует от 10 до 60 % [2]. Такой широкий разброс встречаемости как эмоциогенного, так и других типов нарушений ПП в работах разных авторов часто связан с использованием разных опросников, а также с вариацией величин граничных значений для выявления клинически значимых нарушений ПП [4].

Клинически значимое компульсивное ПП встречалось у 25,6 % женщин и у 14,4 % мужчин ( $\chi^2 = 3,91; p = 0,048$ ). В связи с этими результатами следует отметить, что около 40 % больных ожирением физически не ощущают дискомфорта, связанного с перееданием, и не предъявляют активных жалоб при избыточном потреблении пищи [14]. Достоверные гендерные различия были выявлены и по частоте встречаемости клинически значимого экстернального ПП (34,0 % у женщин и 21,1 % у мужчин,  $\chi^2 = 4,56; p = 0,033$ ). По мнению специалистов, это наиболее распространенный тип нарушений ПП. Так, например, экстернальное ПП встречалось у 63,0 % девушек и 61,7 % юношей студенческого возраста [5].

Особый интерес представляет анализ частоты встречаемости и выраженности ограничительного ПП, когда периоды избыточных пищевых самоограничений и строгих диет у пациентов сменяются периодами переедания. Клинически значимое ограничительное ПП встречалось у женщин в 30,8 % случаев и у 18,9 % мужчин

( $\chi^2 = 4,14; p = 0,042$ ). Эти данные указывают, что женщины чаще, чем мужчины, пытаются контролировать массу тела путем режимных и диетических приемов. Кроме того, такое поведение можно интерпретировать как ответную реакцию на все увеличивающуюся информационную пропаганду по борьбе с избыточным весом, когда женщины, даже имеющие нормальную массу тела, начинают прибегать к разного рода ограничениям в питании, борясь за «эталонные» параметры тела. Нарушения ПП встречались как в изолированной форме, так и в вариантах их сочетаний. В изолированной форме нарушения ПП были выявлены у 33 % мужчин и у 34 % женщин. Сочетание двух и более типов нарушения ПП встречалось у женщин чаще, чем у мужчин (26,9 и 15,6 % соответственно,  $\chi^2 = 4,19; p = 0,041$ ).

При анализе пищевых дневников (табл. 2) у мужчин выявлено преобладание по калорийности всех основных приемов пищи, а также абсолютного потребления основных нутриентов: белков, жиров, углеводов. В относительном выражении процент потребляемого белка был выше у мужчин, а процент углеводов – у женщин, по относительной доле потребляемых жиров мужчины и женщины не различались.

Особый интерес с точки зрения анализа гендерных особенностей нарушений ПП представляет СНЕ. Известно, что вечерний и ночной приемы пищи используются пациентами в качестве снотворного средства, а также средства, снимающего тревожность и депрессию [1]. Оказалось, что у обследованных нами мужчин СНЕ встречался достоверно чаще, чем у женщин (23,3 и 12,8 % соответственно,  $\chi^2 = 4,54; p = 0,033$ ). Характерной особенностью СНЕ у мужчин было то, что они

Таблица 3

Выраженность нарушений пищевого поведения, количество потребляемых нутриентов и калорий в группах мужчин и женщин с синдромом ночной еды

Показатель	Мужчины		p	Женщины		p
	Без СНЕ (n = 69)	СНЕ (n = 21)		Без СНЕ (n = 136)	СНЕ (n = 20)	
Возраст, лет	40,2 ± 13,2	40,2 ± 9,8	1,000	43,0 ± 13,6	39,8 ± 10,2	0,309
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	34,5 ± 5,8	39,6 ± 6,2	0,001	32,0 ± 4,4	34,4 ± 3,0	0,017
Эмоциогенное ПП, баллы	0,69 ± 0,59	2,06 ± 1,23	0,000	1,15 ± 0,85	1,78 ± 0,67	0,002
Компульсивное ПП, баллы	1,38 ± 0,79	2,54 ± 0,75	0,000	1,89 ± 0,93	2,28 ± 1,07	0,085
Экстернальное ПП, балл	2,07 ± 0,71	2,49 ± 0,58	0,020	2,32 ± 0,69	2,76 ± 0,90	0,011
Ограничительное ПП, балл	1,77 ± 1,06	1,36 ± 0,74	0,243	2,00 ± 0,82	1,76 ± 0,55	0,196
Потребление белков, г	123 ± 53	133 ± 41	0,467	80 ± 28	99 ± 27	0,006
Потребление жиров, г	157 ± 61	190 ± 61	0,061	115 ± 51	153 ± 55	0,003
Потребление углеводов, г	288 ± 138	336 ± 113	0,201	219 ± 83	315 ± 125	0,000
Калорийность, ккал	3055 ± 1152	3588 ± 980	0,094	2230 ± 727	3028 ± 971	0,000

преимущественно потребляли пищу менее чем за 2 часа до сна, в то время как женщины преимущественно ели во время ночных пробуждений. Калорийность ночных приемов пищи у мужчин была достоверно выше (табл. 3). Синдром ночной еды часто сопровождался утренней анорексией и, как следствие, отсутствием завтрака. Так, среди всех обследованных лиц у 17 % мужчин и 7 % женщин ( $\chi^2 = 5,58$ ;  $p < 0,018$ ) завтрак отсутствовал более 4 раз в неделю. В подгруппах мужчин и женщин с СНЕ нарушения эмоциогенного, компульсивного и экстернального ПП были выражены в большей степени, чем в подгруппах мужчин и женщин без СНЕ (см. табл. 3).

У мужчин с СНЕ выявлена тенденция к большему потреблению жиров и, соответственно, калорий. Женщины с СНЕ достоверно больше потребляли все основные нутриенты и, как следствие, получали большее количество калорий. Вероятно, в связи с этим лица с СНЕ имели более высокие показатели ИМТ и большую частоту морбидного ожирения. Так, среди мужчин с СНЕ 33,3 % имели ИМТ более 40 кг/м<sup>2</sup>, а в подгруппе мужчин без СНЕ – лишь 13 % ( $\chi^2 = 4,53$ ;  $p = 0,033$ ); среди женщин эти величины составили 10,0 и 4,4 % соответственно ( $\chi^2 = 1,12$ ;  $p = 0,290$ ). Интересной особенностью явилось то, что лица с СНЕ имели преимущественно андронидный тип ожирения. Так, среди мужчин с СНЕ андронидный тип имели 29,8 %, а гиноидный тип ожирения – лишь 10,0 % ( $\chi^2 = 5,20$ ;  $p = 0,022$ ); у женщин с разными типами ожирения СНЕ встречался в 16,9 и 9,4 % случаев соответственно ( $\chi^2 = 1,45$ ;  $p = 0,163$ ).

Нарушения ПП ассоциированы с дисфункцией церебральных систем, регулирующих прием пищи, и основная роль в этом отводится серото-

нинергической недостаточности [20]. Поскольку потребление простых углеводов приводит к повышению уровня глюкозы и последующей постпрандиальной гиперинсулинемии, а в условиях последней гематоэнцефалический барьер становится более проницаемым для триптофана, это ведет к усилению синтеза серотонина, который участвует в формировании насыщения, полноценного сна и эмоционального комфорта [20]. Ранее нами было показано, что у лиц с нормальной массой тела вечерняя нагрузка глюкозой относительно утренней сопровождалась более выраженным повышением уровня глюкозы и уровня инсулина в крови [15]. Это феномен был охарактеризован как физиологическая инсулинорезистентность, необходимая для переключения на липидный тип обмена в ночное время. Высокий уровень глюкозы и инсулина создает в норме предпосылки для увеличения содержания серотонина в ЦНС и, как следствие, способствует снижению тревоги, напряжения и наступлению сна. У лиц с андронидным типом ожирения в вечернюю фазу циркадного ритма при углеводной нагрузке уровень глюкозы в крови выше, но концентрация инсулина ниже, чем в утреннем тесте, и меньше, чем у лиц с нормальной массой тела. В этих условиях отсутствуют необходимые условия для достаточного проникновения триптофана через гематоэнцефалический барьер и усиления синтеза серотонина, что влечет за собой отсутствие насыщения и увеличение количества принимаемой пищи. Учитывая высокую обоснованность предложенной гипотезы, можно назвать углеводную пищу лекарством, эмпирически найденным лицами с абдоминальным ожирением для достижения эмоционального комфорта и засыпания.

Таблица 4

Анализ корреляционных взаимосвязей типов нарушений пищевого поведения с нутриентным составом пищи и ее калорийностью

Показатель	Эмоциогенное, баллы		Компульсивное, баллы		Экстернальное, баллы		Ограничительное, баллы	
	М	Ж	М	Ж	М	Ж	М	Ж
Белки, г	0,24	0,10	0,13	0,11	0,14	0,09	0,13	0,18*
Жиры, г	0,30*	0,18*	0,31*	0,25**	0,41***	0,31***	0,03	0,19*
Углеводы, г	0,37**	0,30***	0,29*	0,20*	0,28	0,15	0,11	0,22**
	0,37**	0,25**	0,30*	0,26**	0,29*	0,26**	0,05	0,20*

Примечание. М – мужчины, Ж – женщины.

В табл. 4 приведены результаты корреляционного анализа связей разных типов пищевого поведения с нутриентным составом пищи и ее калорийностью. Показано, что выраженность эмоциогенного ПП и компульсивного ПП как у мужчин, так и у женщин прямо связана с потреблением углеводов и жиров и не связана с потреблением белков. Действительно, потребление пищи, богатой рафинированными углеводами, приводит к снижению тревоги, эмоционального дискомфорта и приносит чувство удовольствия. Выраженность экстернального ПП была прямо связана с содержанием жиров в пище. Такая зависимость может быть обусловлена кулинарными свойствами жиров, придающих пище повышенные вкусовые свойства. В целом по эмоциогенному, компульсивному и экстернальному типам ПП тренд корреляционных связей с потребляемыми нутриентами и общей калорийностью рациона у мужчин и женщин совпал. Исключением явилось ограничительное ПП, достоверные отрицательные корреляционные связи которого с потреблением основных нутриентов и калорийностью были выявлены только у женщин.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выраженность всех типов нарушений ПП и частота их клинически значимых случаев выше у женщин с избыточной массой тела и ожирением, чем у мужчин. У женщин чаще выявляются комбинированные формы нарушений ПП, среди которых наиболее часто встречается сочетание эмоциогенного, экстернального и ограничительного типов ПП. Нарушения ПП определяют нутриентный состав пищи, при этом если эмоциогенное и компульсивное ПП в большей степени связаны с потреблением углеводов, то экстернальное – с потреблением более жирной пищи. Нарушения ПП в виде СНЕ, который встречается чаще у мужчин, чем у женщин, преобладают у лиц с андронидным типом ожирения. Высказана и обоснована

гипотеза, что потребление пищи в вечерние или ночные часы необходимо для повышения уровня серотонина, который оказывает снотворный, антидепрессивный и анксиолитический эффект.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вознесенская Т.Г. Нарушения пищевого поведения при первичном ожирении // Наркология. 2006.
2. Волкова Г.Е., Романцова Т.И., Вознесенская Т.Г. и др. Динамика медиаторов энергетического обмена и пищевого поведения на фоне терапии ожирения // Ожирение и метаболизм. 2009. (1). 29–35.
3. Исаченкова О.А. Пищевое поведение как важный фактор развития ожирения и коморбидных с ним заболеваний // Ожирение и метаболизм. 2015. 12. (4). 14–17.
4. Рукавишников И.А. Патофизиологические аспекты пищевого поведения (аддикции переедания): автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2006.
5. Салмина-Хвостова О.И., Салмина И.С. Профилактика нарушений пищевого поведения среди студентов Новокузнецка с применением психологического тренинга // Тюмен. мед. журн. 2010. (1). 58–59.
6. Alonso-Alonso M., Woods S.C., Pelchat M. et al. Food reward system: current perspectives and future research needs // Nutr. Rev. 2015. 73. 5. 296–307.
7. Azagba S., Sharaf M.F. Eating behavior and obesity in Canada: evidence from panel data // J. Prim. Care Community Health. 2012. 3. (1). 57–64.
8. Bailly N., Maitre I., Amand M. et al. The Dutch Eating Behaviour Questionnaire (DEBQ): Assessment of eating behaviour in an aging French population // Appetite. 2012. 59. (3). 853–858.
9. Camilleri G.M., Méjean C., Kesse-Guyot E. et al. The associations between emotional eating and consumption of energy-dense snack foods are modified by sex and depressive symptomatology // J. Nutr. 2014. 144. 1264–1273.

10. Goldschmidt A.B., Crosby R.D., Engel S.G. et al. Affect and eating behavior in obese adults with and without elevated depression symptoms // *Int. J. Eat. Disord.* 2014. 47. (3). 281–286.
11. Groesz L.M., McCoy S., Carle J. What is eating you? Stress and the drive to eat // *Appetite.* 2012. 58. (2). 717–721.
12. Joyner M.A., Gearhardt A.N., White M.A. Food craving as a mediator between addictive-like eating and problematic eating outcomes // *Eat. Behav.* 2015. 19. 98–101.
13. Larsen J.K., van Strien T., Eisinga R. et al. Gender differences in the association between alexithymia and emotional eating in obese individuals // *J. Psychosom. Res.* 2006. 60. 237–243.
14. Ogden C.L., Carroll L.R., Curtin L.R. et al. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999–2004 // *JAMA.* 2006. 295. (13). 1549–1555.
15. Pinkhasov B.B., Selyatinskaya V.G., Astrakhan-tseva E.L. et al. Circadian rhythms of carbohydrate metabolism in women with different types of obesity // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. 161. (3). 323–326.
16. Sominsky L., Spencer S.J. Eating behavior and stress: a pathway to obesity // *Front. Psychol.* 2014. (5) ID 434.
17. Stunkard A., Berkowitz R., Wadden T. et al. Binge eating disorder and the night-eating syndrome // *JAMA.* 1999. 282. (7). 657–663.
18. Van Strein T., Frijtere J., Bergere G. et al. The Dutch eating behavior questionnaire (DEBO) for assessment of restrained emotional and external eating behavior // *Int. J. Eat. Disord.* 1986. 5. (2). 295–315.
19. Van Strien T., Herman C.P., Anschutz D.J. Moderation of distress-induced eating by emotional eating scores // *Appetite.* 2012. 58. (1). 277–284.
20. Wurtman R.J., Wurtman J.J. Brain serotonin, carbohydrate-craving, obesity and depression // *Obes. Res.* 1995. 3. (4). 477S–480S.

## GENDER FEATURES OF EATING BEHAVIOR DISORDERS IN PERSONS WITH OVERWEIGHT AND OBESITY

Iraida Georgievna MOKHOVA, Boris Borisovich PINKHASOV,  
Vera Georgievna SELYATITSKAYA

*Research Institute of Experimental and Clinical Medicine  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

---

**Objective:** The purpose of this study was to research the features of eating behavior disorders and their relation to nutrients food composition among overweight and obese men and women. **Material and methods.** The study included 246 patients (90 men and 156 women with overweight and obesity); anthropometric data and recording of food consumption in 24hs were assessed, the types of eating disorders (ED) were detected by DEBQ. **Results and discussion.** The severity of ED and the frequency of their clinically significant cases, as well as combined forms, are higher in women, than in men. It has been shown, that ED determine nutrients food composition. Emotional and compulsive ED are more associated with carbohydrate intake and external ED are associated with fat intake. Night eating syndrome occurs more commonly among men, than among women, also more prevalent among patient with android type of obesity. There was justified hypothesis, that evening and night eating is necessary for increasing serotonin level, which has hypnotic, antidepressant and anxiolytic effects.

---

**Key words:** men, women, overweight, obesity, eating disorders, night eating syndrome, nutrients.

*Mokhova I.G. – postgraduate student, of the laboratory of endocrinology, e-mail: igmokhova@gmail.ru*

*Pinkhasov B.B. – doctor of medical sciences, leading researcher of the laboratory of endocrinology,  
e-mail: pin@centercem.ru*

*Selyatitskaya V.G. – doctor of biological sciences, professor, chief researcher of the laboratory of endocrinology,  
e-mail: ccem@centercem.ru*

## СУТОЧНЫЕ И СЕЗОННЫЕ РИТМЫ СОДЕРЖАНИЯ КОРТИЗОЛА У МУЖЧИН, ПРОЖИВАЮЩИХ В ВЫСОКИХ И СРЕДНИХ ШИРОТАХ

Лев Михайлович ПОЛЯКОВ

*НИИ биохимии*

*630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

Цель настоящего исследования – изучение особенностей суточных и сезонных ритмов содержания кортизола в плазме крови представителей мужского населения Севера (г. Норильск) и средних широт (г. Новосибирск). Показано, что суточные ритмы содержания кортизола у мужчин, проживающих в разных широтах, имели определенные особенности в зависимости от сезона, однако характеризовались и сходными признаками: высокими величинами в утренние часы (с 3 до 11 ч) с последующим снижением в течение суток. Сезонные (циркадулярные) ритмы содержания кортизола у жителей данных регионов существенно различались между собой: у мужчин, проживающих в средних широтах, оно было повышено в весенне-летний период и существенно снижено в осенне-зимний период, в то время как сезонных различий в суточном ритме содержания кортизола у северян не обнаружено.

**Ключевые слова:** кортизол, кровь, суточные и сезонные ритмы.

Биологические ритмы относятся к фундаментальным свойствам живых систем, каждая из которых имеет временную организацию. Среди целого спектра биологических ритмов выделяют цирканнулярные, или сезонные, а также циркадианные, или суточные, а точнее, околосоточные ритмы, которые достаточно жестко синхронизированы с геофизическими периодами различных климатических зон проживания человека. Очевидно, что продолжительность светового периода является стабильной величиной, и в различные сезонные периоды года на одной широте она одинакова. В этом отношении для исследователей наибольший интерес представляют периоды полярного дня (лето) и полярной ночи (зима) – периоды с максимальными различиями светового режима. В условиях высоких широт одним из факторов, влияющих на жизнедеятельность организма человека, является необычная фотопериодичность [1, 9].

В устойчивом состоянии организма в регионах умеренных широт все циркадианные системы, имеющие периодичность, близкую к 24 часам, синхронизированы между собой, причем эта синхронизация частотная, а не фазовая, так как между отдельными функциями существует фазовый сдвиг во времени, обусловленный наличием причинно-следственных отношений между системами с определенной временной последовательностью [6, 8]. Особая роль в этих процессах отводится ритмам нейроэндокринной системы, обеспечивающей временную синхро-

низацию биохимических реакций и физиологических функций [5]. И действительно, показано, что проживание в высоких широтах у человека вследствие контрастных изменений продолжительности светового периода приводит к дисбалансу эндокринных функций [3, 4, 7]. Следует отметить, что представленные в настоящее время сведения о влиянии фотопериодичности на дисбаланс эндокринной системы противоречивы и касаются в основном лиц, проживающих на территориях Европейского Севера [2, 8, 9]. Недостаточно информации о функции эндокринных желез в разные сезоны года в зависимости от продолжительности светового дня в заполярных регионах Азиатского Севера страны.

Учитывая вышесказанное, целью работы было изучение особенностей суточных и сезонных ритмов содержания кортизола в крови у мужчин Заполярья (г. Норильск) и средних широт (г. Новосибирск).

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на клинически здоровых молодых людях мужского пола, строительных рабочих г. Норильска ( $n = 20$ ). Группы контроля ( $n = 20$ ) составили практически здоровые мужчины, проживающие в г. Новосибирске. Возраст обследуемых в группах составлял от 18 до 22 лет. Все участники подписывали добровольное информированное согласие на участие в научном исследовании. Образцы крови забирали



в течение четырех сезонов года в период солнцестояний и равноденствия. Забор крови производили методом венепункции в специальную стерильную вакуумную систему «BDVacutainer». Содержание кортизола в плазме крови определяли с использованием наборов СТЕРОН-К-<sup>125</sup>I-М (Белоруссия) на жидкостном сцинтилляционном счетчике «LS6500» («Beckman Coulter», США).

Статистическую обработку результатов исследования производили, вычисляя среднее арифметическое значение ( $M$ ), стандартную ошибку среднего значения ( $m$ ), и представляли в виде  $M \pm m$ . Для сравнения двух групп по одному признаку использовали  $t$ -критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Считается, что суточная продолжительность светового периода является одним из основных ритмообразующих факторов, влияющих на основные параметры жизнедеятельности организма и функционирование его регулирующих систем, в том числе на циркадианные или суточные ритмы секреции кортизола. На рис. 1 показаны особенности суточных ритмов концентрации кортизола в плазме крови жителей средних широт (г. Новосибирск) в различные сезонные периоды года. Из представленных данных следует, что действительно содержание кортизола меняется в течение суток с максимумом в утренний период (с 3 до 11 ч) с постепенным снижением в дневное и ве-

черное время. Обращает на себя внимание выраженная амплитуда этих изменений в зависимости от сезонов года с максимальными значениями уровня гормона в весенне-летний период и минимальными значениями в осенне-зимний период.

Изучение особенностей суточных ритмов концентрации кортизола в плазме крови представителей Заполярья в различные сезонные периоды года (рис. 2) также позволило выявить наличие ее суточной динамики с максимумом в утренние часы (7–11 ч) в весенне-летний период и в 7 ч утра в период осень–зима. Характерной особенностью циркадной динамики концентрации кортизола у представителей Заполярья явилось отсутствие выраженных сезонных различий по сравнению с Новосибирском, что может противоречить некоторым существующим представлениям о влиянии фактора продолжительности светового дня на гормональные показатели.

Суммарная суточная концентрация кортизола плазмы крови, рассчитанная как площадь под суточной кривой, у представителей средних широт имела выраженную сезонную зависимость (рис. 3). Обращает на себя внимание статистически значимая разница в суммарной суточной концентрации кортизола в весенне-летний период по сравнению с осенне-зимним ( $p < 0,01$ ). Таким образом, показатель суммарной суточной концентрации кортизола плазмы крови жителей средних широт имел сезонные различия и коррелировал с продолжительностью светового периода суток. Сезонных различий в суммарной суточной концентрации кортизола у представителей Запо-

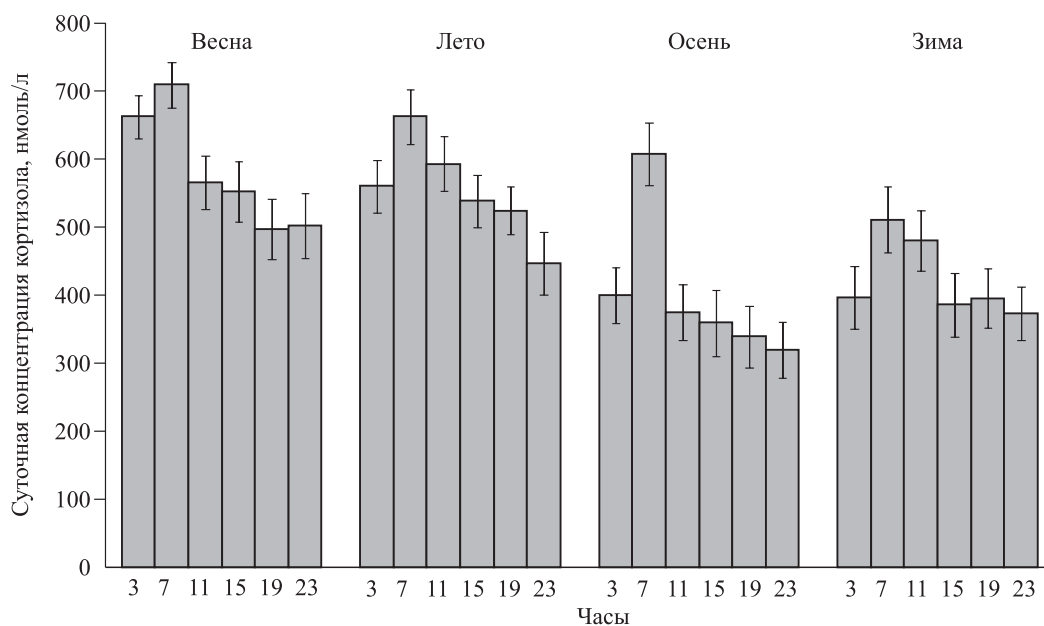


Рис. 1. Сезонные вариации суточных ритмов концентрации кортизола в плазме крови мужчин, проживающих в средних широтах (г. Новосибирск)

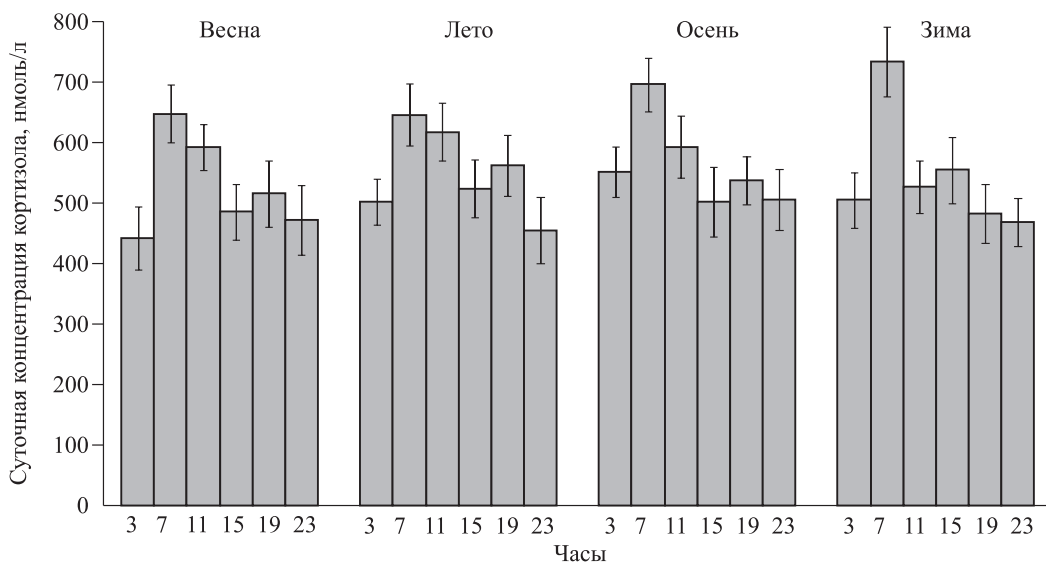


Рис. 2. Сезонные вариации суточных ритмов концентрации кортизола в плазме крови мужчин, проживающих в высоких широтах (г. Норильск)

ляря не обнаружено. Также следует отметить отсутствие выраженных различий в суточной концентрации кортизола между представителями средних и высоких широт в течение периода весна–лето и повышенную на 25 % суммарную суточную концентрацию кортизола в крови у северян в осенне-зимний период по отношению к величине показателя жителей средних широт (г. Новосибирск).

Изучение суточных (циркадианных) ритмов активности гипофиз-адреналовой системы у че-

ловека активно началось еще во второй половине прошлого столетия. Результаты работ последующих лет в основном согласуются между собой и подтверждают ранее накопленные данные о том, что наиболее высокая функциональная активность гипофиз-адреналовой системы отмечается в утренние часы. В течение дня секреция адренокортикотропного гормона и кортизола постепенно снижается и становится минимальной в поздние вечерние и ночные часы [13, 15, 18]. Считается, что пиковые уровни секреции кортизола в утренние часы находятся под влиянием продолжительности светового и темного периода суток [17], а также тесно связаны с концентрацией мелатонина в крови [14].

Вопрос о наличии сезонных (циркадиальных) ритмов уровня и секреции кортизола не является однозначным. Повышенное содержание кортизола обнаружено весной [21], осенью [18], зимой [10, 12, 16, 17] или не отмечались вовсе [11, 22, 23]. В настоящем исследовании нами показаны сезонные различия циркадного ритма концентрации кортизола у мужчин, проживающих в средних широтах (г. Новосибирск), причем уровень кортизола был значительно повышен весной и летом по сравнению с периодом осень–зима (см. рис. 1 и 3). Это несколько контрастирует с исследованиями, в которых максимальные уровни кортизола в крови, а также экскреция 17-оксикортикостероидов с мочой отмечены в течение холодного зимнего периода [10, 12, 16]. Однако наши результаты согласуются с работами, в которых показаны повышенные уровни кортизола и адренокортикотропного гормона весной [19, 21], а также в период весна–лето [20].

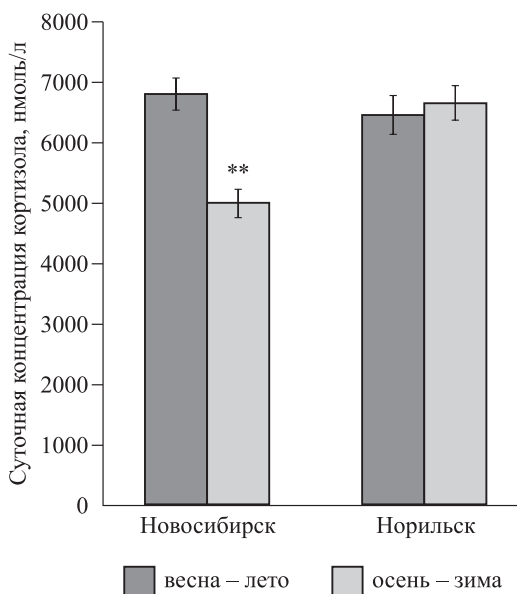


Рис. 3. Суммарная суточная концентрация кортизола в плазме крови мужчин, проживающих в средних и высоких широтах, в весенне-летний и осенне-зимний периоды. Двумя звездочками обозначен уровень значимости различий, равный 0,01

Следует отметить, что характерной особенностью циркадной динамики концентрации кортизола у представителей Заполярья явилось отсутствие выраженных сезонных различий по сравнению с Новосибирском (см. рис. 2 и 3). Это согласуется с результатами, полученными на добровольцах в арктической зоне Норвегии [23], для которых не обнаружены сезонные различия циркадной динамики уровня кортизола в крови. Правда, авторы отмечают небольшое, но статистически значимое увеличение средней концентрации кортизола в плазме и количества выделяемого в течение суток гормона в осенне-зимний период по сравнению с весной и летом. С другой стороны, есть наблюдения, в которых утверждается, что у здоровых людей сезонных различий в фазе эндогенного циркадного ритма кортизола нет, и что человек может жить в окружающей среде, в которой суточная фотопериодичность утратила статус первичного таймера – водителя ритма [23].

#### ВЫВОДЫ

1. Суточные ритмы содержания кортизола у мужчин, проживающих в разных широтах, имели определенные особенности в зависимости от сезона, однако характеризовались и сходными признаками: высокими величинами в утренние часы (с 3 до 11 ч) с последующим снижением в течение суток.

2. Сезонные (цирканнулярные) ритмы содержания кортизола у жителей данных регионов существенно различались между собой. Сезонные колебания содержания кортизола у представителей средних широт характеризовались его повышением в весенне-летний период и выраженным снижением в осенне-зимний период. Сезонных различий в суточном ритме содержания кортизола у северян не обнаружено.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую благодарность бывшим сотрудникам лаборатории биохимии Института клинической и экспериментальной медицины П.Е. Влощинскому, Т.А. Третьяковой, Л.С. Останиной за практическую помощь, получение и обработку материала во время экспедиций. Автор глубоко признателен академику РАН Л.Е. Панину за общее руководство работой.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойко Е.Р., Ткачев А.В. Влияние продолжительности светового дня на эндокринные и биохимические показатели у человека на Севере // Рос. физиол. журн. 1995. 81. (7). 86–92.

2. Ким Л.Б., Белишева Н.К., Пуяттина А.Н., Русских Г.С., Кожин П.М., Цыпышева О.Б. Качество жизни мужчин разного возраста на европейском севере: связь с самооценкой здоровья и гормональным статусом // Успехи геронтологии. 2016. 29. (2). 360–368.

3. Кубасов Р.В., Демин Д.Б., Ткачев А.В. Адаптивные реакции эндокринной системы у детей, проживающих в условиях контрастной фотопериодики // Физиол. человека. 2006. 32. (4). 89–96.

4. Лелькин М.К., Селятицкая В.Г., Лутов Ю.В., Пальчикова Н.А., Гинсар Е.А., Кузьминова О.И., Кейль В.Р. Нарушения тиреоидного статуса у работающих мужчин и женщин в зависимости от длительности проживания на Севере // Бюл. СО РАМН. 2009. 29. (5). 9–15.

5. Наточин Ю.В. Патофизиология эндокринной системы / ред. Ю.В. Наточин. СПб.: Невский диалект, 2001. 336 с.

6. Панин Л.Е. Фундаментальные проблемы приполярной и арктической медицины // Бюл. СО РАМН. 2013. 33. (6). 5–10.

7. Селятицкая В.Г. Глюкокортикоидные гормоны: от процессов адаптации к экологическим факторам Севера до метаболических нарушений при диабете // Бюл. СО РАМН. 2012. 32. (1). 13–20.

8. Суханов С.Г., Ткачев А.В., Золкина А.Н. Биокрибернетическая оценка сезонных изменений эндокринных функций у жителей Европейского Севера // Острый и хронический стресс. Сыктывкар, 1986. 64–68.

9. Ткачев А.В., Раменская Е.Б. Эколого-физиологические особенности системы гипофиз–кора надпочечников–щитовидная железа // Эндокринная система и обмен веществ у человека на Севере. Сыктывкар, 1992. 15–44.

10. Agrimonti F., Angeli A., Frairia R., Fazzari A., Tamagnone C., Fornaro D., Ceresa F. Circannual rhythmicities of cortisol levels in the peripheral plasma of healthy subjects // Chronobiologia. 1982. 9 (2). 107–114.

11. Bellastella A., Criscuolo T., Mango A., Peronne L., Sinisi A.A., Faggiano M. Circannual rhythms of plasma luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone, prolactin and cortisol in prepuberty // Clin. Endocrinol. 1983. 19. (4). 453–459.

12. Del Ponte A., Guagnano M.T., Sensi S. Time-related behaviour of endocrine secretion: circannual variations of FT3, cortisol, HGH and serum basal insulin in healthy subjects // Chronobiol. Int. 1984. 1. (3). 297–300.

13. Goldman J., Wajchenberg B.L., Liberman B., Nery M., Achando S., Germek O.A. Contrast analysis for the evaluation of the circadian rhythms of plasma cortisol, androstenedione, and testosterone in normal men and the possible influence of meals // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1985. 60. (1). 164–167.

14. Griffiths P.A., Folkard S., Bojkowski C., English J., Arendt J. Persistent 24-h variations of urinary 6-hydroxy melatonin sulphate and cortisol in Antarctica // *Experientia*. 1986. 42. (4). 430–432.
15. Halberg F., Cornélissen G., Marte-Sorenson K. Important time, though not causal, relations in atrial natriuretic peptide, cortisol and renin // *Chronobiologia*. 1986. 13. (4). 361–364.
16. Hansen A.M., Garde A.H., Skovgaard L.T., Christensen J.M. Seasonal and biological variation of urinary epinephrine, norepinephrine, and cortisol in healthy women // *Clin. Chim. Acta*. 2001. 309. (1). 25–35.
17. Kennaway D.J., Royles P. Circadian rhythms of 6-sulphatoxy melatonin, cortisol and electrolyte excretion at the summer and winter solstices in normal men and women // *Acta Endocrinol.* 1986. 113. (3). 450–456.
18. Levine M.E., Milliron A.N., Duffy L.K. Diurnal and seasonal rhythms of melatonin, cortisol and testosterone in interior Alaska // *Arct. Med. Res.* 1994. 53. (1). 25–34.
19. Malarkey W.B., Pearl D.K., Demers L.M. Influence of academic stress and season on 24-hour mean concentrations of ACTH, cortisol, and endorphin // *Psychoneuroendocrinology*. 1995. 20. (5). 499–508.
20. Matchlock R.L., Dorn L.D. Diurnal and seasonal cortisol, testosterone, and DHEA rhythms in boys and girls during puberty // *Chronobiol. Int.* 2007. 24. (5). 969–990.
21. Reinberg A., Lagoguey M., Cesselin F., Touitou Y., Legrand J.C., Delassalle A., Antreassian J., Lagoguey A. Circadian and circannual rhythms in plasma hormones and other variables of five healthy human males // *Acta Endocrinol.* 1978. 88. (3). 417–427.
22. Van Dongen H.P., Kerkhof G.A., Soverijn J.H. Absence of seasonal variation in the phase of the endogenous circadian rhythm in humans // *Chronobiol. Int.* 1998. 15. (6). 623–632.
23. Weitzman E.D., deGraaf A.S., Sassin J.F., Hansen T., Godtliebsen O.B., Perlow M., Hellman L. Seasonal patterns of sleep stages and secretion of cortisol and growth hormone during 24 hour periods in northern Norway // *Acta Endocrinol.* 1975. 78. (1). 65–76.

## DIURNAL AND SEASONAL RHYTHMS OF CORTISOL CONTENT IN THE MEN OF THE HIGH AND MIDDLE LATITUDES

Lev Mikhaylovich POLYAKOV

*Institute of Biochemistry*  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

The aim of this study is investigation of the features of diurnal and seasonal rhythms of blood plasma cortisol in representatives of the male population of the North (Norilsk) and middle latitudes (Novosibirsk). It was shown that the daily rhythms of cortisol in men of different latitudes had certain peculiarities depending on the season, but they were also characterized by similar signs: high values in the morning hours (from 3 to 11 hours), followed by a decrease during the day. Seasonal rhythms of cortisol in men in these regions differed significantly. Seasonal fluctuations of cortisol in residents of the middle latitudes were characterized by an increase in the content of cortisol in the spring-summer period and a marked decrease in the autumn-winter period. Seasonal differences in the daily rhythm of cortisol content in northerners were not found

**Key words:** cortisol, blood, diurnal and seasonal rhythms.

*Polyakov L.M. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory of medical biotechnology, e-mail: plm@niibch.ru*

## ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ОСНОВНЫХ ФАКТОРОВ ПАТОГЕНЕЗА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА С ЕГО КОМПОНЕНТАМИ У МУЖЧИН

Юрий Владимирович ЛУТОВ, Вера Георгиевна СЕЛЯТИЦКАЯ,  
Ольга Васильевна ВАСИЛЬЕВА, Борис Борисович ПИНХАСОВ

*НИИ экспериментальной и клинической медицины  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

Цель работы: изучить зависимость параметров, характеризующих метаболический синдром и его компоненты, от наличия и различных сочетаний основных факторов его патогенеза у мужчин. **Материал и методы.** Проведено обследование 239 работающих на промышленном предприятии мужчин. Для верификации метаболического синдрома и его основных компонентов использовали критерии Консенсуса международных экспертов в областях кардиологии и эндокринологии 2009 года; рассчитывали индекс инсулинорезистентности НОМА-IR; дисфункцию висцеральной жировой ткани определяли путем расчета индекса висцерального ожирения; дефицит тестостерона выявляли при его содержании в крови не более 12 нмоль/л. **Результаты и их обсуждение.** Частота встречаемости и степень выраженности параметров, характеризующих МС и его компоненты, прямо пропорциональны количеству факторов его патогенеза, одновременно выявляемых у обследованных мужчин, при этом патогенетическая роль дефицита тестостерона проявляется только на поздних стадиях развития метаболического синдрома при присоединении к сочетанию инсулинорезистентности с дисфункцией висцеральной жировой ткани.

**Ключевые слова:** мужчины, метаболический синдром, инсулинорезистентность, дисфункция висцеральной жировой ткани, дефицит тестостерона.

В последние десятилетия внимание специалистов в различных областях медицины (кардиологии, эндокринологии, гинекологии, андрологии и др.) приковано к метаболическому синдрому (МС), который позиционируется как кластер модифицируемых факторов сердечно-сосудистого риска, включающий в себя пять основных патологических состояний (компонентов): абдоминальное ожирение, артериальную гипертензию (АГ), нарушения углеводного обмена, гипертриглицеридемию и пониженный уровень в крови липопротеидов высокой плотности – гиппоальфахолестеринемию (ГАХС) [4, 14]. Объединение указанных патологических состояний в один синдром обусловлено несколькими моментами. Во-первых, их сочетанное влияние обеспечивает более высокую степень риска развития кардиологической патологии и ее фатальных осложнений, чем любое из них, взятое отдельно [5]. Во-вторых, количество одновременно присутствующих компонентов МС прямо пропорционально степени кардиоваскулярного риска [1, 22]. В-третьих, в качестве патогенетической основы всех со-

ставляющих МС компонентов выступает инсулинорезистентность (ИР) [2, 17]. В-четвертых, взаимоотношения всех компонентов МС с ИР характеризуются принципом обоюдного усиления, или патологического «порочного» круга [24].

По мере накопления знаний о клинических, патогенетических, эпидемиологических, гендерных и других аспектах МС представления о нем трансформируются. В частности, выявлены существенные региональные, этнические и гендерные особенности формирования МС и его компонентной структуры, а также их зависимость от ряда социальных факторов [9, 28]. Установлена существенная роль в патогенезе МС и его компонентов некоторых других механизмов, в частности, это касается дисфункции висцеральной жировой ткани (ДВЖТ) и дефицита тестостерона (ДТС). ДВЖТ тесно связана с абдоминальным ожирением и сопровождается избыточной продукцией провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , резистин, висфатин и т.д.) и недостаточностью противовоспалительных (адипонектин) цитокинов [3, 23]. Существует мнение, что именно аб-

*Лутов Ю.В. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории эндокринологии, e-mail: yvl1308@mail.ru*

*Селятицкая В.Г. – д.б.н., проф., главный научный сотрудник лаборатории эндокринологии,  
e-mail: sset@centercem.ru*

*Васильева О.В. – аспирант лаборатории эндокринологии, e-mail: olja-v2012@yandex.ru*

*Пинхасов Б.Б. – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории эндокринологии, e-mail: pin@centercem.ru*

доминантное ожирение и ДВЖТ могут лежать в основе развития ИР и других факторов сердечно-сосудистого риска, являющихся компонентами МС [2, 23]. Получены также доказательства тесной двусторонней взаимосвязи ИР и компонентов МС с андрогенной недостаточностью, обусловленной ДТС, у мужчин зрелого возраста [15, 20].

В большинстве исследований обсуждаются аспекты приоритетности того или иного фактора патогенеза по отношению к другим, причем приводятся достаточно убедительные доводы в пользу каждого из них. Однако информации об относительном вкладе различных патогенетических механизмов и их взаимодействии в процессе формирования клинических и метаболических нарушений, являющихся компонентами МС и ведущими факторами риска сердечно-сосудистой и эндокринной патологии, недостаточно.

Цель настоящего исследования: изучить зависимость параметров, характеризующих МС и его компоненты, от наличия и различных сочетаний основных факторов его патогенеза у мужчин.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 239 мужчин в возрасте от 21 до 61 года, работавших на промышленном предприятии г. Мирного Республики Саха (Якутия). На момент проведения обследования мужчины не имели осложненных форм и обострений хронической соматической патологии, а также инфекционных заболеваний. Проведение исследования одобрено локальным Комитетом по биомедицинской этике и соответствовало этическим стандартам, разработанным в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и приказами Минздрава РФ. От каждого участника получено информированное согласие на участие в исследовании.

Выполняли антропометрическое обследование, включавшее в себя измерение массы (кг) и длины тела (м), окружности талии (см), расчет индекса Кетле как отношения массы тела к длине тела в квадрате ( $\text{кг}/\text{м}^2$ ). Измеряли систолическое и диастолическое артериальное давление (АД) (мм рт. ст.). Содержание глюкозы (мМ) в капиллярной крови определяли ферментативным методом на анализаторе «Photometer 5010» (Boehringer Mannheim, Германия). В сыворотке венозной крови, взятой из локтевой вены в утренние часы натощак, ферментативными и колориметрическими методами на биохимическом анализаторе «Konelab 30i» (Thermo Electron Corp., Финляндия) определяли содержание триглицеридов (мМ) и холестерина липопротеидов высокой плотности, или альфа-холестерина (АХС) (мМ).

Содержание в сыворотке крови иммунореактивного инсулина (мкЕд/мл) и тестостерона (нМ) измеряли с использованием коммерческих наборов для ИФА.

С целью верификации ИР рассчитывали индекс инсулинорезистентности НОМА-IR по формуле: содержание иммунореактивного инсулина  $\times$  содержание глюкозы/22,5 (у. е.); ИР регистрировали при величине индекса НОМА-IR  $> 2,77$  у. е. [18]. Для верификации ДВЖТ вычисляли индекс висцерального ожирения по формуле для мужчин: (окружность талии / (39,68 + 1,88  $\times$  индекс Кетле))  $\times$  (содержание триглицеридов / 1,03)  $\times$  (1,31/содержание АХС) (у. е.); ДВЖТ регистрировали при величине индекса висцерального ожирения  $> 1,0$  у.е. [6]. ДТС регистрировали при содержании тестостерона в сыворотке крови  $< 12,0$  нМ.

Для выявления МС и его основных компонентов у обследованных пациентов применяли критерии Консенсуса международных экспертов в областях кардиологии и эндокринологии [5]. Абдоминальное ожирение устанавливали при величине окружности талии  $> 102$  см; АГ – при уровнях АД систолического  $\geq 130$  мм рт. ст. и/или АД диастолического  $\geq 85$  мм рт. ст. или при проведении антигипертензивной терапии; нарушения углеводного обмена – при значениях гликемии натощак  $\geq 5,6$  мМ или при выявленных ранее сахарном диабете 2 типа или нарушении толерантности к глюкозе; гипертриглицеридемию – при содержании триглицеридов в крови  $\geq 1,7$  мМ или проводимой гиполипидемической терапии; ГАХС – при содержании АХС в крови  $\leq 1,03$  мМ. Устанавливали МС при выявлении у обследуемого мужчины трех любых основных компонентов.

Результаты в таблицах и тексте представлены как среднее арифметическое величины показателя и его среднеквадратичное отклонение ( $M \pm SD$ ) или частота случаев (%). Для оценки межгрупповых различий использовали непараметрические критерии Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни. Достоверными признавали различия при уровне значимости  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 показаны частоты встречаемости МС и его компонентов, а также средние значения характеризующих их показателей у мужчин в зависимости от числа факторов патогенеза МС, одновременно выявляемых у каждого участника исследования. Средний возраст мужчин достоверно не различался в группах, выделенных в зависимости от числа факторов патогенеза МС, хотя видна отчетливая тенденция к его увеличению при возрастании их количества. Частота встре-

Таблица 1

Параметры, характеризующие МС и его компоненты, у мужчин в зависимости от числа факторов патогенеза МС

Показатели, характеризующие компоненты и факторы патогенеза МС	Число факторов патогенеза МС				p
	0 (n = 48)	1 (n = 70)	2 (n = 76)	3 (n = 45)	
Возраст, лет	38,2 ± 8,56	40,3 ± 10,23	41,0 ± 8,50	42,6 ± 8,12	> 0,05
Число компонентов метаболического синдрома, n	0,63 ± 0,87	1,30 ± 1,04	1,97 ± 1,22	2,82 ± 1,35	0–1 = 0,0143; 0–2,3 < 0,0001; 1–2 = 0,0211; 1–3 < 0,0001; 2–3 = 0,0331
Метаболический синдром, %	2,1	11,4	34,2	55,6	0–2 = 0,0156; 0–3 < 0,0001; 1–3 = 0,0004
Окружность талии, см	84,9 ± 8,42	91,7 ± 9,67	96,6 ± 9,66	103,7 ± 10,02	0–1 = 0,0046; 0–2,3 < 0,0001; 1–2 = 0,0352; 1–3 < 0,0001; 2–3 = 0,0144
Абдоминальное ожирение, %	6,3	11,4	28,9	60,0	0–3 < 0,0001; 1–3 = 0,0001; 2–3 = 0,0259
АД систолическое, мм рт. ст.	126 ± 12,7	133 ± 16,8	136 ± 17,8	139 ± 17,9	0–2 = 0,0167; 0–3 = 0,0028
АД диастолическое, мм рт. ст.	81 ± 11,3	85 ± 11,3	87 ± 11,2	92 ± 10,0	0–2 = 0,0290; 0–3 < 0,0001; 1–3 = 0,0040
Артериальная гипертензия, %	33,3	60,0	67,1	80,0	0–2 = 0,0093; 0–3 = 0,0006
Содержание глюкозы, мМ	4,85 ± 0,61	5,12 ± 0,72	5,44 ± 0,78	5,63 ± 1,29	0–2 = 0,0003; 0–3 = 0,0002
Нарушения углеводного обмена, %	12,5	22,9	32,9	42,2	–
Содержание триглицеридов, мМ	0,78 ± 0,27	1,08 ± 0,50	1,56 ± 0,91	1,79 ± 0,78	0–1 = 0,0046; 0–2,3 < 0,0001; 1–2,3 < 0,0001
Гипертриглицеридемия, %	4,2	12,9	27,6	44,4	0–3 = 0,0048; 1–3 = 0,0256
Содержание альфа-холестерина, мМ	1,51 ± 0,38	1,27 ± 0,30	1,10 ± 0,30	1,05 ± 0,30	0–1 = 0,0120; 0–2,3 < 0,0001; 1–2 = 0,0020; 1–3 = 0,0003
Гипоальфахолестеринемия, %	4,2	22,9	40,8	55,6	0–2 = 0,0036; 0–3 = 0,0001; 1–3 = 0,0186

чаемости МС и всех его компонентов нарастала прямо пропорционально числу факторов патогенеза МС. Она была минимальной у мужчин, не имеющих ни одного из исследованных патогенетических механизмов, и максимальной у мужчин, одновременно имеющих ИР, ДВЖТ и ДТС.

Среднее число компонентов МС, одновременно выявляемых у обследованных мужчин, и средние значения показателей, характеризующих анализируемые компоненты МС, кроме ГАХС, также прямо зависели от числа имеющихся факторов патогенеза; для ГАХС показана обратная связь от числа факторов патогенеза. Среди мужчин, у которых отсутствовали изучаемые факторы патогенеза МС, оказался один человек с МС. Можно предположить, что в этом случае в основе разви-

тия МС лежит какой-либо другой, менее изученный, фактор патогенеза МС, например, гиперсекреция кортизола [10].

В табл. 2 представлены сведения о величинах показателей, характеризующих отдельные компоненты МС, в зависимости от наличия отдельных факторов его патогенеза и их сочетаний. У 20,1 % обследованных мужчин изучаемых факторов патогенеза выявлено не было; 29,3 % мужчин имели один фактор (у 9,2 % установлена ИР, у 15,1 % – ДВЖТ, у 5,0 % – ДТС); 31,8 % мужчин имели два фактора патогенеза (24,3 % были с сочетанием ИР + ДВЖТ, 2,5 % – с сочетанием ИР + ДТС, 5,0 % – с сочетанием ДВЖТ + ДТС); у 18,8 % мужчин имели место все три фактора патогенеза.

Таблица 2

Величины абсолютных показателей, характеризующих МС и его компоненты, у мужчин в зависимости от сочетаний факторов патогенеза МС

Показатели, характеризующие МС и его компоненты	Сочетания факторов патогенеза МС								p
	1	2	3	4	5	6	7	8	
0 (n = 48)		ИР (n = 22)	ДВЖТ (n = 36)	ДТС (n = 12)	ИР+ДВЖТ (n = 58)	ИР+ДТС (n = 6)	ДВЖТ+ДТС (n = 12)	ИР+ДВЖТ+ ДТС (n = 45)	
Возраст, лет	38,0 ± 8,56	37,5 ± 12,05	43,0 ± 8,07	37,3 ± 11,11	40,6 ± 8,79	41,5 ± 7,61	42,9 ± 7,80	42,6 ± 8,12	> 0,05
Число компонентов метаболического синдрома, n	0,63 ± 0,87	1,27 ± 0,98	1,56 ± 1,03	0,58 ± 0,90	2,17 ± 1,23	1,00 ± 0,63	1,5 ± 1,09	2,82 ± 1,35	1-3 = 0,0127; 1-5,8 < 0,0001; 2-8 = 0,0025; 3-8 = 0,0094; 4-5 = 0,0033; 4-8 < 0,0001
Окружность талии, см	84,9 ± 8,42	92,7 ± 11,81	93,1 ± 8,16	85,8 ± 7,89	96,4 ± 9,95	94,2 ± 8,57	98,7 ± 9,00	103,7 ± 10,02	1-3 = 0,0107; 1-5,8 < 0,0001; 1-7 = 0,0027; 2-8 = 0,0047; 3-8 = 0,0026; 4-8 < 0,0001
АД систолическое, мм рт. ст.	126 ± 12,7	134 ± 19,9	134 ± 15,2	127 ± 15,4	134 ± 14,6	127 ± 10,5	152 ± 25,5	139 ± 17,9	1-7 = 0,0060; 1-8 = 0,0130; 4-7 = 0,0443
АД диастолическое, мм рт. ст.	81 ± 11,3	86 ± 14,6	86 ± 9,4	79 ± 7,2	86 ± 9,6	82 ± 5,8	94 ± 17,1	92 ± 10,0	1-8 < 0,0001; 4-8 = 0,0039
Содержание глюкозы, мм	4,85 ± 0,61	5,41 ± 0,73	4,97 ± 0,64	5,03 ± 0,83	5,52 ± 0,82	5,68 ± 0,76	4,97 ± 0,39	5,63 ± 1,29	1-5 = 0,0003; 1-8 = 0,0011
Содержание триглицеридов, мм	0,78 ± 0,27	0,81 ± 0,40	1,36 ± 0,47	0,72 ± 0,17	1,63 ± 0,96	0,89 ± 0,29	1,59 ± 0,70	1,79 ± 0,78	1-3,5,7,8 < 0,0001; 2-3 = 0,0002; 2-5 < 0,0001; 2-7 = 0,0017; 2-8 < 0,0001; 3-4 = 0,0009; 4-5,8 < 0,0001; 4-7 = 0,0021; 6-8 = 0,0392
Содержание альфа-холестерина, мм	1,51 ± 0,38	1,42 ± 0,25	1,12 ± 0,24	1,43 ± 0,31	1,02 ± 0,22	1,60 ± 0,48	1,22 ± 0,30	1,05 ± 0,30	1-3,5,8 < 0,0001; 2-3 = 0,0090; 2-5,8 < 0,0001; 4-5 = 0,0021; 4-8 = 0,0048; 5-6 = 0,0166; 6-8 = 0,0264



Таблица 3

Частоты встречаемости (%) МС и его компонентов у мужчин в зависимости от сочетаний факторов патогенеза МС

МС и его компоненты	Сочетания факторов патогенеза МС								p
	1 0 (n = 48)	2 ИР (n = 22)	3 ДВЖТ (n = 36)	4 ДТС (n = 12)	5 ИР+ДВЖТ (n = 58)	6 ИР+ДТС (n = 6)	7 ДВЖТ+ДТС (n = 12)	8 ИР+ДВЖТ+ ДТС (n = 45)	
Метаболический синдром	2,1	9,1	16,7	0	41,4	0	16,7	55,6	1-5 = 0,0140; 1-8 = 0,0002
Абдоминальное ожирение	6,3	18,2	11,1	0	31,0	16,7	25,0	60,0	1-8 = 0,0002; 3-8 = 0,0044; 4-8 = 0,0396
Артериальная гипертензия	33,3	63,6	66,7	33,3	69,0	33,3	75,0	80,0	1-5 = 0,0447; 1-8 = 0,0028
Нарушения углеводного обмена	12,5	36,4	16,7	16,7	36,2	50,0	8,3	42,2	-
Гипертриглицеридемия	4,2	4,5	22,2	0	31,0	0	25,0	44,4	1-8 = 0,0222
Гипоальфахолестеринемия	4,2	4,5	38,9	8,3	50,0	0	16,7	55,6	1-5 = 0,0014; 1-8 = 0,0005; 2-5 = 0,0477; 2-8 = 0,0196

Наличие у мужчин только ИР либо ДТС, а также их сочетания, не приводило к достоверному изменению величин показателей, характеризующих компоненты МС, относительно мужчин без факторов патогенеза, в то время как наличие ДВЖТ вызывало повышение числа компонентов МС, окружности талии, содержания триглицеридов и снижение уровня АХС в сыворотке. При сочетании ДВЖТ с ДТС сохранялись только характерные для ДВЖТ изменения параметров, но при сочетании ДВЖТ с ИР к ним добавился повышенный уровень глюкозы. И только при сочетании трех факторов патогенеза были выявлены достоверные изменения всех изученных показателей, причем не только относительно мужчин без факторов патогенеза МС, но и относительно мужчин с одним или двумя факторами.

Результаты, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что в группе мужчин с сочетанием ДВЖТ + ИР МС и два его компонента (АГ и ГАХС) встречались достоверно чаще по сравнению с группой мужчин без факторов патогенеза. Сочетание же всех трех факторов патогенеза МС приводило к значительному повышению частоты встречаемости всех компонентов и самого МС. Следовательно, несмотря на то, что ДТС изолированно от других факторов патогенеза не вызывал изменений ни выраженности клинико-метаболических проявлений, характеризующих компоненты МС, ни частоты их встречаемости, его присутствие в качестве третьего механизма патогенеза в комбинации с ДВЖТ и ИР усиливало совместные эффекты последних.

Таким образом, из трех исследованных факторов патогенеза наибольшее влияние на формирование отдельных компонентов и собственно МС оказывает ДВЖТ. Это может быть обусловлено тем, что для выявления ДВЖТ использовали величину расчетного индекса висцерального ожирения, при определении которого учитываются как антропометрические, так и метаболические показатели, и величина которого является индикатором распределения жировой ткани, а также маркером ее дисфункции [7]. В исследованиях, направленных на уточнение и расширение прогностической значимости этого показателя, получила подтверждение гипотеза о том, что индекс висцерального ожирения в популяционных исследованиях может быть предиктором случаев смерти от сердечно-сосудистых и опухолевых заболеваний [25]; на индивидуальном уровне он является индикатором висцерального ожирения и ассоциирован с риском развития сахарного диабета [12]; его рассматривают в качестве маркера изменения адипокинового профиля и увеличения кардиометаболического риска у пациентов

с сахарным диабетом [8]. Индекс висцерального ожирения может служить предиктором превращения метаболически «здорового» ожирения в метаболически «нездоровые» его фенотипы [16], является индикатором риска развития ИР [11] и предвестником развития гипогонадизма у мужчин с ожирением [27].

Проведенное исследование показало, что ДВЖТ является более частым фактором патогенеза, чем ИР, но их сочетание встречается еще чаще (у четверти от общего числа обследованных мужчин). Это свидетельствует в пользу предположения, что в формировании МС в большинстве случаев принимают участие одновременно несколько факторов патогенеза, и согласуется со сведениями из научной литературы [21].

В последние годы особое внимание уделяют изучению роли половых стероидов, в частности тестостерона, и его дефицита в формировании метаболических нарушений, свойственных современному человеку [26]. Показано, что низкий уровень тестостерона является независимым фактором кардиоваскулярного риска и предиктором развития МС, но, с другой стороны, наличие МС приводит к снижению содержания тестостерона в организме [13, 19]. Полученные нами результаты показали, что ДТС проявляет свои негативные эффекты на формирование МС и его отдельных компонентов преимущественно на фоне сочетания ДВЖТ и ИР, а его роль как самостоятельного фактора патогенеза МС у мужчин требует дальнейшего изучения.

## ВЫВОДЫ

1. Частота встречаемости МС и всех его компонентов, а также величины характеризующих их показателей (кроме содержания АХС в крови), у мужчин прямо пропорциональны числу одновременно присутствующих факторов патогенеза МС; выраженность альфахолестеринемии находится в обратной зависимости от числа факторов патогенеза МС.

2. Наибольшее количество достоверных межгрупповых различий по абсолютным и частотным показателям, характеризующим МС и его компоненты, установлено для группы мужчин со всеми тремя анализируемыми факторами патогенеза МС относительно группы без этих факторов и группы только с ДТС.

3. На ранних стадиях формирования МС наиболее значимую роль играют ДВЖТ и ИР, в то время как изолированный ДТС не способствует развитию свойственных для МС метаболических и клинических проявлений; присоединение ДТС к двум другим факторам патогенеза ассоциирова-

но с прогрессированием специфических для МС клинико-метаболических нарушений, нарастанием частоты встречаемости МС и его компонентов, а также формированием наиболее тяжелых развернутых форм МС.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пинхасов Б.Б., Лутов Ю.В., Деев Д.А., Селятицкая В.Г. Стратификация риска развития и тяжести метаболического синдрома у пациентов терапевтического профиля // *Клин. медицина*. 2017. 95. (5). 412–418.
2. Ройтберг Г.Е., Дорош Ж.В., Шархун О.О. Влияние инсулинорезистентности на формирование и прогрессирование компонентов метаболического синдрома (итоги пятилетнего исследования) // *Рац. фармакотерапия в кардиологии*. 2015. 11. (2). 132–138.
3. Свеклина Т.С., Таланцева М.С., Барсуков А.В. Метаболический синдром и воспаление: актуальные вопросы патогенеза // *Клин. лаб. диагностика*. 2013. (3). 7–10.
4. Цанова И.А., Шаронова Л.А., Вербовой А.Ф. Метаболический синдром и сердечно-сосудистые заболевания // *Рус. мед. журн.* 2017. 25. (11). 785–789.
5. Alberti K.G.M.M., Eckel R.H., Grundy S.M. et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome/ A Joint Interim statement of the International Diabetes Federation taskforce on epidemiology and prevention; National Heart, Lung and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009. 120. 1640–1645.
6. Amato M.C., Giordano C., Galia M., Criscimanna A., Vitabile S., Midiri M., Galluzzo A. Visceral adiposity index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk // *Diabetes Care*. 2010. 33. (4). 920–922.
7. Amato M.C., Giordano C. Visceral adiposity index: an indicator of adipose tissue dysfunction // *Int. J. Endocrinol.* 2014. ID 730827.
8. Amato M.C., Pizzolanti G., Torregrossa V., Misiano G., Milano S., Giordano C. Visceral adiposity index (VAI) is predictive of an altered adipokine profile in patients with type 2 diabetes // *PLoS One*. 2014. 9. (3). ID e91969.
9. Beltran-Sanchez H., Harhay M.O., Harhay M.M., Mc Elligott S. Prevalence and trends of metabolic syndrome in the adult U.S. population, 1999–2010 // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013. 62. (8). 697–703.
10. Constantinopoulos P., Michalaki M., Kottorou A., Habeos I., Psyrogiannis A., Kalfarentzos F., Kyriazopoulou V. Cortisol in tissue and systemic level as a contributing factor to the development of

- metabolic syndrome in severely obese patients // Eur. J. Endocrinol. 2015. 172. (1). 69–78.
11. Du T., Yuan G., Zhang M., Zhou X., Sun X., Yu X. Clinical usefulness of lipid ratios, visceral adiposity indicators, and the triglycerides and glucose index as risk markers of insulin resistance // Cardiovasc. Diabetol. 2014. 13. ID 146.
12. Du T., Sun X., Huo R., Yu X. Visceral adiposity index, hypertriglyceridemic waist and risk of diabetes: the China Health and Nutrition Survey 2009 // Int. J. Obesity. 2014. 38. 840–847.
13. Ebrahimi F., Christ-Crain M. Metabolic syndrome and hypogonadism – two peas in a pod // Swiss Med. Wkly. 2016. 146. ID w14283.
14. Grundy S.M. Metabolic syndrome update // Trends Cardiovasc. Med. 2016. 26. (4). 364–373.
15. Hatzimouratidis K., Hatzichristou D. Testosterone and erectile function: an unresolved enigma // Eur. Urol. 2007. 52. (1). 26–28.
16. Kang Y.M., Jung C.H., Cho Y.K., Jang J.E., Hwang J.Y., Kim E.H., Lee W.J., Park J.Y., Kim H.K. Visceral adiposity index predicts the conversion of metabolically healthy obesity to an unhealthy phenotype // PLoS One. 2017. 12.(6). e0179635. 14 p.
17. Lorenzo C., Williams K., Hunt K.J., Haf-fner S.M. The National Cholesterol Education Program–Adult Treatment Panel III, International Diabetes Federation, and World Health Organization definitions of the metabolic syndrome as predictors of incident cardiovascular disease and diabetes // Diabetes Care. 2007. 30. (1). 8–13.
18. Matthews D., Hosker J., Rudenski A. Homeostatic model assessment: insulin resistance and b-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man // Diabetologia. 1985. 28. 412–419.
19. Moretti C., Lanzolla G., Moretti M., Gnassi L., Carmina E. Androgens and hypertension in men and women: a unifying view // Curr. Hypertens. Rep. 2017. 19. ID 44.
20. Novikova E., Selyatitskaya V., Mitrofanov I., Pinkhasov B., Karapetyan A. Association of erectile dysfunction and hypogonadism with metabolic syndrome in men with lower urinary tract symptoms of younger and older age groups // Adv. Sex. Med. 2014. 4. 55–64.
21. Paniagua J.A. Nutrition, insulin resistance and dysfunctional adipose tissue determine the different components of metabolic syndrome // World J. Diabetes. 2016. 7. (19). 483–514.
22. Primary prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes in patients at metabolic risk: an Endocrine Society clinical practice guideline // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2008. 93. (10). 3671–3689.
23. Ruan H., Dong L.Q. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues // J. Mol. Cell. Biol. 2016. 8. (2). 101–109.
24. Reaven G.M. The individual components of metabolic syndrome: is there a raison d’etre? // J. Am. Nutr. 2007. 26.(3). 191–195.
25. Research letter. Visceral adipose tissue dysfunction and mortality among a population-based sample of males and females // Diabetes Metab. 2016. 42. 382–385.
26. Varlamov O. Western-style diet, sex steroids and metabolism // Biochim. Biophys. Acta. 2017. 1863. 1147–1155.
27. Wang N., Zhai H., Han B., Li Q., Chen Y., Xia F., Lin D., Lu Y. Visceral fat dysfunction is positively associated with hypogonadism in Chinese men // Scientific Reports. 2016. 6. ID 19844.
28. Xiao J., Shen C., Chu M.J., Gao Y.X., Xu G.F., Huang J.P., Xu Q.Q., Cai H. Physical activity and sedentary behavior associated with components of metabolic syndrome among people in rural China // PLoS One. 2016. 11.(1). ID e0147062.

## **INTERACTION BETWEEN MAIN FACTORS OF METABOLIC SYNDROME PATHOGENESIS AND ITS COMPONENTS IN MEN**

**Yuriy Vladimirovich LUTOV, Vera Georgievna SELYATITSKAYA,  
Olga Vasilevna VASILEVA, Boris Borisovich PINKHASOV**

*Research Institute of Experimental and Clinical Medicine  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

---

Objective: to study the dependence of the parameters characterizing the metabolic syndrome (MS) and its components on the availability and various combinations of the main factors of its pathogenesis in men. **Material and methods.** A survey of 239 men working at an industrial enterprise was carried out. The criteria of the Consensus of international experts in the fields of cardiology and endocrinology (2009) were used to verify the MS and its main components; the index of insulin resistance HOMA-IR was calculated; the dysfunction of visceral adipose tissue was determined by calculating the index of visceral obesity; testosterone deficiency was detected at testosterone blood levels no more than 12 nmol/L. **Results and discussion.** The frequency of occurrence and expression degree of the parameters characterizing the MS and its components are directly proportional to the number of its pathogenesis factors simultaneously detected in the men surveyed. Thereat the pathogenetic role of testosterone deficiency was manifested only in the late stages of MS development when connected to the combination of insulin resistance with dysfunction of visceral adipose tissue.

---

**Key words:** men, metabolic syndrome, insulin resistance, dysfunction of visceral adipose tissue, testosterone deficiency.

*Lutov Yu.V. – candidate of medical sciences, senior researcher of the laboratory of endocrinology,  
e-mail: yvl1308@mail.ru*

*Selyatitskaya V.G. – doctor of biological sciences, professor, chief researcher of the laboratory of endocrinology,  
e-mail: ccem@centercem.ru*

*Vasileva O.V. – postgraduate student of the laboratory of endocrinology, e-mail: olja-v2012@yandex.ru*

*Pinkhasov B.B. – doctor of medical sciences, leading researcher of the laboratory of endocrinology,  
e-mail: pin@centercem.ru*